

FACULTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1901-1902. — N° 46

---

# RECHERCHES

SUR LE

# DOSAGE DU FER DANS LE SANG

ET SUR LA

*TENEUR EN FER DU SANG DU NOUVEAU-NÉ*

---

## THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 24 Décembre 1901

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

BARTHÉLEMY MOREAU

Né à Bourbon-Lancy (Saône-et-Loire), le 13 juillet 1866



LYON

IMPRIMERIE PAUL LEGENDRE ET C<sup>ie</sup>

Ancienne Maison A. Waltener

14, rue Belle-Cordière, 14

—  
1901







Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41552408\\_0015](https://archive.org/details/IA41552408_0015)

FACULTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1901-1902. — N° 46

---

# RECHERCHES

SUR LE

# DOSAGE DU FER DANS LE SANG

ET SUR LA

*TENEUR EN FER DU SANG DU NOUVEAU-NÉ*

---

## THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 24 Décembre 1901

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

BARTHÉLEMY MOREAU

Né à Bourbon-Lancy (Saône-et-Loire), le 13 juillet 1866



LYON.

IMPRIMERIE PAUL LEGENDRE ET Cie

Ancienne Maison A. Waltener

14, rue Belle-Cordière, 14

—  
1901

# PERSONNEL DE LA FACULTÉ

|                      |            |
|----------------------|------------|
| MM. LORTET . . . . . | DOYEN.     |
| LACASSAGNE. . . . .  | ASSESSEUR. |
| CROLAS. . . . .      | QUESTEUR.  |

## PROFESSEURS HONORAIRES

MM. PAULET, CHAUVEAU.

## PROFESSEURS

|                                                           |                 |
|-----------------------------------------------------------|-----------------|
| Cliniques médicales. . . . .                              | MM. LEPINE.     |
| Cliniques chirurgicales. . . . .                          | BONDET.         |
| Clinique obstétricale et Accouchements . . . . .          | BARD            |
| Clinique ophtalmologique. . . . .                         | PONCET.         |
| Clinique des Maladies cutanées et syphilitiques . . . . . | X.              |
| Clinique des Maladies mentales . . . . .                  | FOCHIER.        |
| Clinique des Maladies des enfants . . . . .               | GAYET.          |
| Physique médicale . . . . .                               | GAILLETON.      |
| Chimie médicale et pharmaceutique. . . . .                | PIERRET.        |
| Chimie organique et Toxicologie. . . . .                  | WEILL.          |
| Matière médicale et Botanique. . . . .                    | MONOYER.        |
| Parasitologie . . . . .                                   | HUGOUNENQ       |
| Anatomie. . . . .                                         | CAZENEUVE.      |
| Anatomie générale et Histologie. . . . .                  | FLORENCE.       |
| Physiologie. . . . .                                      | LORTET.         |
| Pathologie interne. . . . .                               | TESTUT.         |
| Pathologie externe . . . . .                              | RENAUT.         |
| Pathologie et Thérapeutique générales . . . . .           | MORA F.         |
| Anatomie pathologique. . . . .                            | TEISSIER.       |
| Médecine opératoire. . . . .                              | AUGAGNEUR.      |
| Médecine expérimentale et comparée. . . . .               | MAYET.          |
| Médecine légale . . . . .                                 | TRIPPIER.       |
| Hygiène. . . . .                                          | POLLOSSON (M.). |
| Thérapeutique. . . . .                                    | ARLOING.        |
| Pharmacologie. . . . .                                    | LACASSAGNE.     |
|                                                           | COURMONT.       |
|                                                           | SOULIER         |
|                                                           | CROLAS.         |

## PROFESSEUR ADJOINT

|                                            |               |
|--------------------------------------------|---------------|
| Clinique des Maladies des femmes . . . . . | M. LAROYENNE. |
|--------------------------------------------|---------------|

## CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

|                                                      |                         |
|------------------------------------------------------|-------------------------|
| Maladies des voies urinaires. . . . .                | MM. CHANDELUX, agrégé.  |
| Maladies des oreilles, du nez et du larynx . . . . . | LANNOIS, —              |
| Propédeutique médicale . . . . .                     | ROQUE, —                |
| Propédeutique chirurgicale. . . . .                  | GANGOLPHE, —            |
| Propédeutique de gynécologie. . . . .                | CONDAMIN, —             |
| Anatomie pathologique. . . . .                       | DEVIC, —                |
| Physiologie . . . . .                                | DOYON, —                |
| Accouchements. . . . .                               | FABRE, —                |
| Botanique. . . . .                                   | BEAUVISAGE, —           |
| Hydrologie et matières alimentaires. . . . .         | CAUSSE, Dr ès-sciences. |

## AGRÉGÉS

|             |         |                 |          |
|-------------|---------|-----------------|----------|
| MM.         | MM.     | MM.             | MM.      |
| BEAUVISAGE. | VALLAS. | NOVÉ-JOSSERAND. | CHATIN.  |
| ROUX.       | SIRAUD. | BERARD.         | VILLARD. |
| COLLET.     | DURAND. | SAMBUC.         | TIXIER.  |
| BOYER.      | PIC.    | BORDIER.        | FABRE.   |
| BARRAL.     | PAVLOT. | COURMONT (P.).  | REGAUD.  |
| MOREAU.     |         |                 |          |

M. BEAUDUN, Secrétaire.

## EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. CAZENEUVE, Président; M. CROLAS, Assesseur;  
MM. HUGOUNENQ, Professeur, et SAMBUC, Agrégé.

*La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.*

## INTRODUCTION

---

Le fer, si abondamment répandu dans le règne minéral à l'état d'oxydes ou de sels et qui est devenu, grâce à ses emplois multiples, une substance de première nécessité pour la vie extérieure de l'homme, est aussi un corps indispensable pour sa vie intérieure, c'est-à-dire pour le bon fonctionnement de ses organes. Et ce besoin de fer se fait sentir non-seulement pour l'homme, mais encore pour tous les êtres du règne animal et même du règne végétal. C'est qu'en effet ce métal participe aux phénomènes de la vie d'une manière très intime et très profonde, surtout chez les organismes supérieurs, animaux ou végétaux.

Chez l'homme et la plupart des animaux, la majeure partie du fer contenu dans les tissus s'y trouve sous la forme d'une combinaison organique très complexe, l'hémoglobine du globule sanguin. Cette hémoglobine, substance chimique à peu près définie,

qui appartient au groupe des albuminoïdes, qui se double en une nucléo-albumine et en un pigment ferrugineux, qui est capable d'absorber et de fixer de l'oxygène pour donner une nouvelle combinaison peu stable, l'oxyhémoglobine, est chargée d'un rôle considérable dans l'économie, celui d'accomplir la grande fonction de l'hématose, c'est-à-dire de servir de distributeur d'oxygène aux divers tissus. Cette hémoglobine fixée sur le globule sanguin, transportée par le sang à travers tout le corps, arrive, dans les capillaires du poumon, à se trouver dans le voisinage de l'air venu du dehors et renfermé dans les alvéoles bronchiques, elle se transforme en oxyhémoglobine en absorbant l'oxygène de l'air et continuant son trajet, elle va céder cet oxygène aux tissus au fur et à mesure de leurs besoins, pour repasser à l'état d'hémoglobine qui de nouveau fixera de l'oxygène dans le poumon, pour recommencer le même cycle de transformations.

Que l'organisme s'appauvrisse en fer et aussitôt le sang se décolore, les tissus pâlissent, deviennent blancs, puis d'aspect cireux, en même temps qu'ils perdent leur vigueur et leur fermeté, les forces diminuent, le cœur n'a plus son rythme normal, la respiration devient plus difficile et plus pénible : c'est l'anémie ou la chlorose qui s'installe chez l'individu dont le fer disparaît.

En réalité, il s'élimine toujours de l'organisme sain une petite quantité de fer par les urines et surtout par les matières fécales, mais celui-ci est remplacé par le fer contenu, à l'état organique, dans nos ali-

ments, comme l'a montré Bunge avec son hémogène ou nucléine ferrugineuse du jaune d'œuf.

Chez la plante, le fer est également indispensable. Sachs a montré qu'une plante verte, que l'on fait germer dans une solution nutritive ne contenant pas de fer, fournit des feuilles blanches ne renfermant pas de granulations chlorophylliennes; mais il suffit d'ajouter un peu de sel de fer au liquide nutritif pour provoquer l'apparition de la matière colorante verte.

Le fer est donc nécessaire à la formation de la chlorophylle ou matière verte de la plante à laquelle est dévolue l'importante fonction de dissociation de l'acide carbonique et de l'eau, avec dégagement d'oxygène et fixation du carbone qui servira de point de départ à l'édification et à la synthèse des nombreuses substances organiques, alcaloïdes, glucosides, amidon, matières odorantes, etc, qui se forment dans les plantes. Les plantes de constitution simple et sans chlorophylle ont aussi besoin de fer, comme l'a établi Raulin pour l'aspergillus.

La présence du fer est donc indispensable pour la vitalité des tissus.

Chez l'homme, le fer se trouve à l'état de combinaison organique complexe dans presque tous les tissus, en particulier dans le foie et la rate; mais c'est surtout dans le sang, sous forme d'hémoglobine, qu'il se rencontre en plus grande quantité. Le sang contient environ, pour 100 grammes, 43 gr. de globules rouges, correspondant à 12 gr. 04 d'hémoglobine, soit 0 gr. 05 de fer, en acceptant le chiffre habituellement admis de 0 gr. 42 de fer pour 100 gr. d'hémo-

globine humaine. Le dosage du fer dans le sang présente donc un intérêt tout particulier.

Ce dosage peut s'effectuer par bien des méthodes qui varient suivant qu'on dispose de peu ou de beaucoup de sang. Quand on possède de grosses quantités de sang, 100 gr. et plus, seule, la destruction complète des combinaisons organiques, nécessaire pour libérer les substances minérales, présente quelques difficultés, comme on le verra au chapitre suivant, mais le dosage du fer dans ces cendres est facile, parce que la proportion est suffisante, et toutes les méthodes de dosage employées habituellement en chimie analytique sont applicables ici.

Quand il s'agit d'analyser de faibles quantités de sang, et nous voulons dire par là des doses de 15 à 20 grammes au maximum, il faut alors des procédés spéciaux, très sensibles, et encore l'opération est-elle très délicate, puisqu'il s'agit de retrouver au maximum un centigramme de fer mélangé à plus de 800 fois son poids de matières étrangères solides.

Diverses méthodes ont été indiquées.

Pelouze (1) conseille de mettre un poids déterminé de sang dans une capsule de platine, d'évaporer doucement, de calciner le résidu au rouge sombre pendant 2 heures, d'épuiser plusieurs fois à chaud le résidu de la calcination par 10 c. c. d'acide chlorhydrique étendu de son poids d'eau, chaque épuisement étant suivi d'une calcination, et de répéter cette opération jusqu'à ce que tout le charbon ait disparu.

(1) FRÉMY. — *Encyclopédie chimique. — Analyse du sang.*

La solution ainsi obtenue est additionnée de solution de sulfite de soude à 10 0/0, puis chauffée et maintenue à l'ébullition 3 ou 4 minutes. Le liquide refroidi est étendu au litre et titré au permanganate de potassium.

Ce procédé a l'inconvénient d'être très long et de rendre l'oxyde de fer presque insoluble dans l'acide chlorhydrique par suite des nombreuses calcinations que l'on doit effectuer.

Lambling (1), pour doser l'hémoglobine par le fer prend 100 gr. de sang défibriné et lui fait subir un traitement voisin de celui de Pelouze puis dose le fer par le permanganate de potassium.

Lapicque (2), dose le fer colorimétriquement. Pour cela 2 gr. de sang sont placés dans un ballon de 100 cc. avec 3 cc. d'acide sulfurique pur. On chauffe jusqu'à ce que le coagulum formé se soit dissous et que toute l'eau soit évaporée, puis on ajoute quelques gouttes d'acide azotique pur. On chauffe de nouveau jusqu'à sec et on recommence jusqu'à obtention d'un liquide limpide légèrement coloré en jaune verdâtre. On étend à 40 cc., on ajoute 10 cc. de solution à 20 0/0 de sulfocyanate d'ammonium et on examine au colorimètre Duboscq par comparaison avec un verre rouge étalon.

Nous ferons au procédé de Lapicque, quelques reproches qui ne sont pas sans importance.

(1) *Thèse de Nancy*, 1882.

(2) *Bull. Soc. de biologie*, 1889, p. 167. *Thèse doctorat*, Paris, 1894-1895.

Tout d'abord nous doutons que le moyen qu'il indique permette la destruction complète de la matière organique du sang et par conséquent la mise en liberté de la totalité du fer. Nous verrons, en effet, au chapitre I<sup>er</sup> que les procédés de destruction de Gautier et de Pouchet, très voisins du sien, laissent de la matière non détruite.

Nous présenterons encore quelques observations qui seront indiquées dans le chapitre II.

Foller (1) dessèche le sang au bain-marie, calcine modérément le résidu et le traite à plusieurs reprises dans un creuset par de l'acide azotique fumant, en évaporant chaque fois à sec. Il fond ensuite les cendres avec du bisulfate de potasse, reprend le tout par quelques centimètres cubes d'eau, ramène à l'état ferreux par le zinc et dose le fer avec la solution centinormale de permanganate de potasse. L'auteur prétend avoir pu faire un dosage de fer sur une goutte de sang mesurée avec une pipette de 50 millimètres cubes. Cette goutte est incinérée comme précédemment, puis le résidu est transformé en sulfocyanate et dosé colorimétriquement, mais de nombreuses précautions sont recommandées par l'auteur.

Haswel (2) et Bruel (3) ont décrit chacun un procédé volumétrique à l'hyposulfite de soude et Jolles (4)

(1) *Mon. für Chem.*, t. 17, p. 677.

(2) *Journ. chim. ph.*, 1882.

(3) *Comptes rend. Acad.*, 1883.

(4) *Zeit. analyt. Chem.*, t. 36, p. 149.

une méthode pondérale au nitroso  $\beta$  naphthol qui seront décrits au chapitre II.

A côté de ces procédés directs, on pourrait encore titrer indirectement le fer dans le sang en y dosant l'hémoglobine par les moyens physiques : spectroscopie (hématospectroscope) spectrophotométrie, puis par le calcul on en déduit la proportion correspondante de fer en se rappelant qu'il est admis que 100 gr. d'hémoglobine humaine referment 0 gr. 42 de fer.

D'après de Saint-Martin (1) il y aurait concordance entre les résultats trouvés par le dosage chimique direct du fer et ceux donnés par le dosage de l'oxyhémoglobine par la méthode spectrophotométrique.

Le dosage du fer dans le sang est, nous l'avons dit, très important; mais il est un cas où ce dosage présente un intérêt tout particulier, c'est lorsqu'il s'applique au sang du nouveau-né humain. C'est qu'en effet, la connaissance de la proportion de fer contenue dans le sang de l'enfant au moment de sa naissance est indispensable pour savoir si les idées de Bunge, émises à propos des mammifères, sont applicables à l'espèce humaine. Bunge a constaté que le lait des mammifères est très pauvre en fer, 0,004 de  $\text{Fe}^2 \text{O}^3$  environ par litre chez la femme; 0,0035 chez la vache; 0,019 chez la chienne; comme ce métal est indispensable au développement des tissus et à la formation du sang, le jeune animal, n'en recevant

(1) *Société de Biologie*, 16 mars 1901.

point par l'allaitement, doit donc apporter en naissant une provision de fer qu'il utilise au fur et à mesure de ses besoins. Telle est l'hypothèse de Bunge. Elle est confirmée par ce fait que la teneur en fer des cendres du nouveau-né est très élevée au moment de sa naissance et qu'elle décroît rapidement par suite du développement des tissus.

Mais, comment est réparti ce fer ? Se trouve-t-il seulement dans le sang et dans les tissus, ou existe-t-il une réserve quelque part dans l'organisme ?

Zaleski puis Lapicque et Kruger semblent admettre que le foie contient cette réserve, car, pour le chien, le lapin et le veau, cet organe est beaucoup plus riche en fer chez le nouveau-né que chez l'adulte.

Les travaux de Hugo Winternitz (1), en montrant que le sang des animaux nouveau-nés est très riche en hémoglobine, laissent supposer que cette réserve pourrait bien être dans le sang.

Chez le chien, le taux de l'hémoglobine se maintient à 18 % jusqu'à la vingtième heure ; au bout de deux jours il n'est plus que de 14 % et de 12 % après trois à quatre jours. Le sang de trois fœtus de chien à terme, extraits par laparotomie et n'ayant pas respiré, contenait respectivement 17,36-14,11, 13,97 % d'hémoglobine, tandis que le sang de la mère n'en renfermait que 10,19 %.

Le même auteur, dosant l'hémoglobine dans le sang de chiens nouveau-nés à des âges différents, a

(1) *Zeits. phys. et Chem.*, tome 22, p. 449.

trouvé que 100 gr. de poids vif renfermaient, à 20 heures, 1 gr. 346 d'hémoglobine, à deux jours 0 gr. 848, à trois jours 0 gr. 778, à sept jours 0 gr. 600. Le nouveau-né apporte donc, en naissant, une provision d'hémoglobine qui peut être considérée vraisemblablement comme une des formes sous lesquelles le fer est en réserve, puisqu'une partie disparaît à mesure que les tissus se développent. Cette question de l'accumulation du fer dans l'organisme du nouveau-né animal est aujourd'hui tranchée par l'affirmative ; elle reste encore en discussion pour l'enfant.

M. Hugounenq (1), étudiant la composition minérale de l'organisme chez le fœtus humain et l'enfant nouveau-né, a montré que la teneur en fer est plus élevée chez les fœtus à terme qu'à tout autre époque de la grossesse. Chez un nouveau-né de poids normal la quantité totale de fer à l'état de peroxyde,  $\text{Fe}^2\text{O}^3$ , contenue dans l'organisme est d'environ 0 gr. 383 à 0 gr. 421, soit 0 gr. 268 à 0 gr. 294 de fer métallique.

M. Hugounenq, appliquant au sang des jeunes enfants les données relatives à l'homme adulte, à savoir que le poids total du sang est égal au  $1/12$  du poids du corps et que sa teneur en fer est de 0 gr. 90 à 0 gr. 95 de  $\text{Fe}^2\text{O}^3$  par litre, a émis l'hypothèse qu'à la naissance 50 à 60 % du fer total sont à l'état d'hémoglobine ; le reste entre dans la composition des tissus. Mais, comme ces divers tissus

(1) *Journal de Phys. et Path. gén.* 1899, p. 703.

contiennent beaucoup moins de fer que le sang, il s'en suivrait que la majeure partie du fer non hématique serait, sous forme de réserve, déposée dans tel ou tel organe et destinée à parer, chez le nourrisson, à l'insuffisance du fer fourni par le lait.

C'est là l'opinion que semble admettre M. Hugou-nenq, tout en formulant des réserves et les idées de Bunge seraient applicables à l'espèce humaine comme aux mammifères.

Pour que le calcul précédent soit exact, il faut que la teneur en fer du sang du nouveau-né ne soit pas supérieure à celle du sang de l'adulte ; si, au contraire, elle est très élevée, ce fer hématique peut être suffisant pour l'édification des tissus, sans qu'il y ait lieu d'admettre une autre réserve.

La composition du sang de l'enfant nouveau-né, et particulièrement sa richesse en fer, est donc très importante à connaître. Les recherches faites dans ce sens sont très peu nombreuses à notre connaissance.

Becquerel et Rodier (1) ont étudié la composition du sang de la femme pendant la grossesse, et particulièrement sa teneur en fer. Ils ont trouvé, chez des femmes en bon état de santé :

|               |         |                       |
|---------------|---------|-----------------------|
| Sels solubles | 2 gr. 4 | pour 1000 gr. de sang |
| Fer           | 0, 449  | » » »                 |

Ils ont de plus constaté une diminution du nombre des globules et des albumines et une augmentation

(1) *Acad. des Sciences*, 1844.

de l'eau. Chez une femme chlorotique, la quantité de fer trouvé fut de :

0 gr. 319 pour 1000 gr. de sang

Ces deux savants ne se sont pas occupés du sang des jeunes enfants.

Poggiale (1) a fait l'analyse du sang de quelques animaux nouveau-nés au point de vue du résidu fixe ; il a publié le tableau suivant :

|                            | Sang placentaire fourni par le cordon |        | Sang fœtal fourni par le cordon |        |
|----------------------------|---------------------------------------|--------|---------------------------------|--------|
|                            | Matières fixes                        | Eau    | Matières fixes                  | Eau    |
| 1 <sup>e</sup> Expérience. | 248 31                                | 751 69 | 246 »                           | 754 »  |
| 2 <sup>e</sup> —           | 237 55                                | 762 45 | 236 25                          | 763 75 |
| 3 <sup>e</sup> —           | 280 42                                | 719 58 | 276 33                          | 723 67 |

Il donne comme composition moyenne du sang placentaire :

Cendres : 10 gr. 31 pour 1.000 gr.

Oxyde de fer : 1 gr. 99 —

Il en conclut que le sang des animaux nouveau-nés est riche en globules, pauvre en fibrine, que l'oxyde de fer y est plus abondant que chez l'adulte. On peut déduire aussi de la lecture de ce tableau que le sang placentaire et le sang fœtal ont sensiblement la même composition, au moins en ce qui concerne les éléments non gazeux.

(1) *Acad. des Sciences*, 1847, p. 198.

Ces résultats ont été confirmés par les travaux plus récents et déjà signalés de Hugo Winternitz qui a reconnu la richesse exceptionnelle en hémoglobine du sang de très jeunes animaux.

Denís (1) a recueilli du sang placentaire dans un cas d'accouchement, mais n'a déterminé que sa teneur en sels 15 gr., 63 pour 1.000, sans se préoccuper du dosage du fer.

En somme, si la teneur en fer du sang des jeunes mammifères est connue, rien n'a été fait pour le sang des jeunes enfants. Nous avons donc cru combler une lacune en effectuant de nombreux dosages de fer dans le sang d'enfants nouveau-nés ; les chiffres trouvés pouvant indiquer si l'hypothèse de Bunge est applicable à l'espèce humaine.

Nos expériences ont porté sur 25 échantillons différents de sang prélevés au moment de l'accouchement après la section du cordon. Ils sont constitués soit par du sang placentaire, soit par du sang fœtal, sans mélange des deux.

C'est notre manière d'opérer et ce sont nos résultats avec les conclusions qu'ils comportent que nous publions dans ce travail.

Le dosage du fer dans le sang comprend deux opérations successives présentant chacune une grande importance : 1<sup>o</sup> la destruction de la matière organique du sang ayant pour but de libérer les substances minérales pour les rendre dosables ; 2<sup>o</sup> le dosage du fer. Pour chacune de ces opérations il y a de nombreuses

(1) *Acad. des Sciences*, 1859, p. 85.

méthodes, mais comme nous ne disposions que d'une faible quantité de sang (de 4 gr. à 20 gr.) et qu'il s'agissait par suite de doser de 2 à 10 milligrammes de fer, nous avons dû n'employer que les méthodes les plus exactes et les plus sensibles et pour cela contrôler toutes les méthodes habituelles pour connaître celles, qui, dans ce cas particulier, pouvaient donner de bons résultats.

Nous avons dû ainsi rechercher quels étaient les meilleurs procédés de destruction complète des matières organiques, puis quelles étaient les meilleures méthodes de dosage du fer, applicables à de faibles quantités de sang.

Notre travail est divisé en six chapitres :

1<sup>o</sup> Vérification des procédés de destruction des matières organiques applicables à de petites quantités de sang ;

2<sup>o</sup> Vérification des procédés de dosage du fer, applicables à de faibles quantités de sang ;

3<sup>o</sup> Comparaison entre l'exactitude et la sensibilité des principales méthodes de dosage signalées ;

4<sup>o</sup> Notre procédé de dosage ;

5<sup>o</sup> Dosage du fer dans le sang des enfants nouveau-nés ;

6<sup>o</sup> Interprétations et conclusions.

---



## CHAPITRE PREMIER

---

### **Vérification des divers procédés généraux de destruction des matières organiques applicables à de petites quantités de sang.**

Le sang, tel qu'il sort des vaisseaux, est un liquide de composition trop complexe pour qu'on puisse y doser directement le fer; il faut lui faire subir une transformation préalable. D'ailleurs, le fer s'y trouve à l'état d'hémoglobine, c'est-à-dire en combinaison très stable avec des substances organiques de nature albuminoïde; sous cette forme il perd son caractère métallique, en même temps que ses réactions classiques. Il est nécessaire, pour effectuer le dosage, de détruire cette combinaison, de brûler la matière organique pour libérer le fer, le transformer en sel soluble et lui rendre ainsi ses propriétés et ses réactions habituelles.

Il y a de nombreuses méthodes permettant d'effec-

tuer cette destruction et, bien que, selon les auteurs, toutes soient bonnes quand il s'agit du fer, ce qui est faux, nous avons cherché quelles sont celles, parmi les plus employées, pouvant s'appliquer facilement à la destruction de petites quantités de sang ; comment on doit s'en servir et quels résultats elles donnent au point de vue du dosage du fer.

1° CALCINATION. — La calcination à température élevée semble le procédé le plus simple et le plus pratique ; la matière organique est détruite et le fer, métal non volatil, ainsi que la plupart de ses combinaisons, se retrouve en entier, après l'opération, sous forme de sesquioxyde. C'est, d'ailleurs, le procédé conseillé par divers auteurs, en particulier par Denis.

Cette méthode présente deux inconvénients. Le premier, c'est que la calcination complète de 5 à 10 gr. de sang se fait très lentement ; elle est à peu près impossible sur un bec de Bunsen. Avec le bec à soufflerie, elle demande plusieurs heures ; la masse se carbonise rapidement, mais ensuite le charbon brûle mal. Dans un fourneau à moufle elle se fait mieux, mais il faut encore un temps relativement long, car il est indispensable, comme nous le montrerons plus loin, d'arriver à des cendres indemnes de charbon.

Le second inconvénient, plus sérieux encore, c'est que cette chauffe prolongée au rouge sombre, transforme le fer en sesquioxyde presque insoluble dans les acides. Il faut alors faire bouillir longtemps cet oxyde avec de l'acide chlorhydrique et, si l'on songe

que la quantité de fer de 10 gr. de sang est très faible, environ 5 milligrammes, le défaut de solubilité peut exposer à de grosses erreurs.

Cette méthode doit donc être abandonnée.

2<sup>o</sup> PROCÉDÉ DE FRESenius ET BABO MODIFIÉ PAR OGIER. — Nous rappelons que le procédé d'Ogier n'est qu'une modification heureuse de la méthode classique de Fresenius et Babo. Ces derniers attaquaient la matière par de l'acide chlorhydrique liquide et des cristaux de chlorate de potasse ajoutés par pincées de temps en temps. Ogier fait passer un courant lent de gaz chlorhydrique dans une solution de chlorate de potasse contenant la matière finement divisée. On obtient ainsi une meilleure utilisation des dérivés chlorés produits et, par suite, une destruction plus rapide.

Voici comment nous avons appliqué la méthode d'Ogier à la destruction du sang :

10 gr. de sang de bœuf non défibriné et divisé s'il est coagulé, sont mis dans un ballon de 500 cc. environ avec une solution de 2 gr. de chlorate de potasse dans 100 gr. d'eau distillée. On fait arriver dans le ballon un courant lent et régulier d'acide chlorhydrique gazeux préparé, comme l'indique Ogier, en laissant tomber une goutte par seconde d'acide sulfurique pur dans de l'acide chlorhydrique liquide commercial, légèrement chauffé. Dès que le courant gazeux passe, il se fait une mousse abondante et le sang devient successivement rouge brun, puis noir avec coagulum abondant, ensuite brun.

jaune, puis jaune d'or, enfin jaune citron, en même temps qu'il se fait un dépôt blanc jaunâtre. A ce moment, l'atmosphère du ballon, resté jusque-là incolore, se remplit de vapeurs vertes de chlore indiquant que la destruction est terminée. La fin de l'opération est d'autant plus proche que le dépôt se sépare mieux du liquide.

Cette première partie de l'opération demande environ 40 minutes. On laisse refroidir, on filtre. Il reste sur le filtre un dépôt blanc assez abondant que nous avons examiné.

Le liquide filtré est traité par 2 à 3 gr. de bisulfite de soude en poudre pour décomposer l'excès de chlore, puis mis à bouillir pour chasser l'excès d'anhydride sulfureux. Finalement, on obtient un liquide jaune clair donnant les réactions classiques des sels ferriques avec le ferrocyanure de potassium et le sulfocyanate de potassium. Il faut environ une heure pour que l'opération soit en totalité terminée.

Si maintenant on cherche à doser le fer à l'état d'hydrate ferrique dans ce liquide, on constate qu'il ne précipite ni à froid ni à chaud, par addition de chlorure d'ammonium et d'ammoniaque en excès, ni même après plusieurs jours de repos. Nous avons alors songé à employer la méthode volumétrique au permanganate de potasse, mais avant même de réduire par le zinc, la liqueur décolorait le permanganate en présence d'acide sulfurique.

Cette réaction indique nettement qu'il reste encore là des matières organiques non décomposées ; ce

sont elles qui empêchent la précipitation du fer par l'ammoniaque. On sait, en effet, que certains acides organiques, tels que l'acide citrique, tartrique, etc., gênent la précipitation du fer et des métaux par les alcalis.

Nous nous sommes demandé si le précipité blanc jaunâtre restant sur le filtre ne contenait pas de fer. Il est presque complètement insoluble dans le sulfure de carbone et dans l'éther, il ne fond pas encore à 100°; il ne contient donc que peu de matières grasses, mais probablement des dérivés des matières albuminoïdes. En le brûlant à l'aide du nitrate de potasse et des carbonates alcalins et dissolvant le résidu salin à chaud dans l'acide chlorhydrique pur, on obtient un liquide donnant avec le ferrocyanure et le sulfocyanate de potassium, les réactions du fer. Donc, ce précipité retient un peu de fer.

La méthode de Fresenius et Babo, même avec la modification d'Ogier, ne peut donc pas s'appliquer à la destruction du sang pour le dosage du fer :

1° Parce qu'une certaine dose de fer reste dans le précipité insoluble ;

2° Parce que, dans le liquide contenant la plus grosse quantité du fer, la présence de matières organiques solubilisées, mais non détruites, empêche l'emploi des méthodes habituelles de dosage de fer ;

3° Parce que, puisqu'il reste des matières organiques non détruites, il est possible que le fer ne soit pas complètement libéré de sa combinaison organique et qu'il se trouve encore en partie à l'état de

fer masqué non décélable par les réactions analytiques habituelles.

Il est évident cependant, que si on voulait évaporer le liquide à sec, détruire le résidu ainsi que le précipité, par calcination avec de l'azotate de potasse et reprendre par l'eau acidulée, on pourrait effectuer un dosage exact; mais alors le procédé se complique et devient inférieur à d'autres méthodes que nous indiquerons.

3<sup>e</sup> MÉTHODE DE VILLIERS. — Villiers a proposé une méthode de destruction très simple et très facile à appliquer quand il s'agit du sang; malheureusement elle n'est pas plus exacte que la précédente et ne convient que pour un essai qualitatif.

Elle repose sur cette réaction que la présence d'un sel de manganèse facilite l'action oxydante de l'acide azotique sur les matières organiques.

Voici comment nous l'avons appliquée :

10 grammes de sang de bœuf, non défibriné, ont été placés dans un ballon de 500 cc. avec 40 cc. d'acide chlorhydrique pur, 100 cc. d'eau distillée et 5 cc. de solution à 10 % de chlorure de manganèse. Ce ballon est fermé par un bouchon à deux trous, dont l'un laisse passer un tube droit plongeant dans le liquide et muni d'un entonnoir, l'autre est traversé par un tube à dégagement aboutissant dans un vase à eau. On chauffe doucement le ballon et on y verse de temps en temps de l'acide azotique pur par 2 à 3 cc. à la fois. Le sang s'attaque, il se fait une mousse abondante si l'on chauffe trop fort, mais

faible si l'on chauffe doucement, en même temps qu'un dégagement d'acide carbonique et d'azote dont la vitesse de passage dans le flacon à eau, indique la marche de l'opération. Après 40 minutes environ, le sang a disparu, le ballon contient un liquide jaune clair avec un dépôt blanc.

On filtre; le précipité séché, à 100°, pèse 0 gr. 20, il est presque insoluble dans le sulfure de carbone et l'éther, il ne fond pas encore à 100°. Calciné avec un mélange de nitrate de potasse et de carbonates alcalins, il donne les réactions colorées de fer.

Le liquide filtré ne précipite pas par le chlorure d'ammonium et l'ammoniaque et il décolore le permanganate de potassium acide, même après que les azotites formés ont été chassés par ébullition avec de l'acide sulfurique. Le dosage du fer y est donc impossible.

En somme, dans le procédé de Villiers, la destruction se comporte exactement comme dans le procédé d'Ogier. Elle a les mêmes inconvénients au point de vue du dosage du fer, c'est-à-dire qu'elle ne détruit qu'incomplètement les matières organiques, mais elle convient très bien pour une recherche qualitative, car l'appareil est simple et le mode opératoire facile à exécuter.

4° MÉTHODE DE GAUTIER. — Voici comment nous avons appliqué cette méthode à la destruction du sang : 10 cc. de sang de bœuf non défibriné et non coagulé pesant 10 gr. 297, sont mis dans une capsule et additionnés de 5 gr. d'acide azotique dilué puis

chauffés doucement. Le sang brunit immédiatement avec formation de nombreux filaments de fibrine coagulée. Quand ces filaments se sont dissous et que le liquide est devenu homogène, on retire du feu, on laisse refroidir un peu et on ajoute 5 gr. d'acide sulfurique pur. Le liquide noircit et s'attaque. On chauffe jusqu'à production de vapeurs blanches, puis on arrose avec 5 gr. d'acide azotique ajouté peu à peu enfin on chauffe jusqu'à carbonisation. On obtient ainsi un charbon poreux que l'on pulvérise, puis que l'on épuise à plusieurs reprises et à l'ébullition par de l'acide sulfurique étendu, pour dissoudre le fer ou l'oxyde de fer. Ce traitement est continué jusqu'à ce que le liquide d'épuisement ne se colore plus par le sulfocyanate de potassium. Le liquide recueilli est filtré, étendu à 200 cc. et divisé en 2 parts de 100 cc. pour effectuer sur l'une, un dosage volumétrique de fer par le permanganate de potassium, et sur l'autre, un dosage par pesée à l'état de sesquioxyde anhydre.

Le dosage volumétrique a été impossible. La liqueur à titrer est jaune paille, elle contient donc encore des matières organiques non détruites ; l'addition de permanganate fonce peu à peu la couleur sans qu'on puisse saisir une nuance limite et la quantité de solution absorbée est hors de proportion avec la dose de fer contenu dans le sang.

Le dosage à l'état de  $\text{Fe}^2\text{O}^3$  a pu se faire, mais il n'est pas exact. 100 cc. de liquide ont été peroxydés par quelques gouttes d'acide azotique à l'ébullition, puis précipités à chaud par l'ammoniaque, en pré-

sence de chlorure d'ammonium. Le précipité a été recuilli, lavé, séché et calciné avec les précautions habituelles.

Voici les chiffres fournis par 2 échantillons de 10 cc. du même sang, pesant 10 gr. 297 et décomposés par la méthode de Gautier.

Les liquides obtenus étaient l'un jaune paille, l'autre jaune madère.

1<sup>er</sup> *Echantillon*. — Liquide jaune madère —  $\text{Fe}_2\text{O}_3 = 0 \text{ gr. } 010$ .

Soit : fer = 0,007 pour 10 gr. 297 de sang.

— — = 0,0679 ‰

2<sup>e</sup> *Echantillon*. — Liquide jaune paille —  $\text{Fe}_2\text{O}_3 = 0 \text{ gr. } 0106$ .

Soit fer = 0,00742 pour 10 gr. 297 de sang.

— — = 0,072 ‰

Il est utile de remarquer que le dosage le plus élevé correspond au liquide le moins coloré, c'est-à-dire à celui qui contient le moins de matières organiques non décomposées. Il est donc certain que la quantité de fer libéré et dosable variera suivant que la calcination aura été poussée plus ou moins loin.

La méthode de destruction de Gautier ne peut donc pas donner de résultats exacts pour le dosage de fer dans le sang, et pour plusieurs raisons.

D'abord le dosage volumétrique est impossible, les liquides étant colorés et contenant encore des matières organiques non détruites.

Le dosage par pesée à l'état de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  est possible, mais il n'est pas exact, car la matière organique n'étant pas complètement détruite, il reste du fer non précipitable par l'ammoniaque.

D'ailleurs Echsner de Coninck (1) a montré que, quand on filtre sur du charbon des solutions de sels de fer en milieu organique, il peut y avoir fixation complète du fer par le charbon, au point que le liquide qui filtre ne donne plus trace de réaction du fer.

On sait, d'ailleurs, très bien que les alcaloïdes, et en particulier la strychnine, sont fixés énergiquement par le charbon et on a basé sur ce fait des méthodes d'extraction (Graham, Hoffmann, Macadam) et de dosage des alcaloïdes. Ceci peut se produire quand on épuise le charbon poreux provenant d'une destruction par la méthode de Gautier ; le fer qui s'y trouve contenu, en présence des matières organiques, peut très bien être fixé par le charbon et ne pas être enlevé par les liquides de lavages.

Le reproche que nous faisons à la méthode de Gautier, appliquée au dosage du fer, se retrouve sans doute pour le dosage de tous les métaux. La destruction n'étant pas complète, le métal n'est que partiellement libéré de sa combinaison organique et le dosage est incomplet.

Cette méthode, excellente pour une recherche qualitative car elle est rapide et ne demande pas d'installation d'appareils, ne convient probablement pas quand il s'agit de dosage de métaux et sûrement pas s'il s'agit du fer.

On pourrait, cependant, obtenir de meilleurs résultats, en calcinant le charbon poreux obtenu, avec du nitrate de potasse jusqu'à destruction complète. Cette

(1) *Comptes rendus Acad.*, 1900.

combustion se fait bien et on obtient un liquide d'épuisement incolore, plus facilement dosable ; mais, ainsi modifié, le procédé Gautier ne diffère presque plus du procédé Pouchet que nous allons exposer.

5<sup>o</sup> PROCÉDÉ DE POUCHET. — 10 gr. de sang de bœuf non coagulé et non défibriné sont placés dans une capsule de 300 cc. environ, puis additionnés de 2 gr. de bisulfate de potasse sec et de 10 gr. d'acide azotique fumant. (Le bisulfate est obtenu en chauffant et maintenant quelques minutes à l'ébullition, dans une capsule de porcelaine, un mélange de 87 gr. de sulfate de potasse et 49 gr. d'acide sulfurique, on coule ensuite sur une plaque de porcelaine). On chauffe doucement d'abord ; il se fait une mousse abondante avec dégagement de vapeurs nitreuses et la masse se liquéfie. Il faut surveiller cette partie de l'opération et éviter de calciner, sans quoi le charbon obtenu plus tard ne se brûle que difficilement. Quand la mousse tombe et que le liquide est jaune orangé, on laisse refroidir un peu puis on ajoute 2 gr. de bisulfate de potasse et 20 gr. environ d'acide sulfurique pur ; on chauffe de nouveau jusqu'à production de fumées blanches. On obtient un liquide noir que l'on promène sur les bords de la capsule pour détruire et ramener au fond les parcelles charbonneuses ; on ajoute enfin par pincées du nitrate de potasse pulvérisé, en ayant soin d'agiter et de chauffer fortement. Le liquide s'éclaircit peu à peu, il devient jaune clair, transparent et dégage des torrents de vapeurs nitreuses. Si ce liquide

s'épaissit trop, on ajoute avec précaution un peu d'acide sulfurique. L'addition de nitrate de potasse doit se faire tant que le liquide n'est pas à peu près décoloré et on chauffe jusqu'à cessation de vapeurs nitreuses.

On doit avoir un liquide à peine teinté en jaune, qui par refroidissement se prend en masse. On reprend ce résidu cristallin par de l'eau distillée à l'ébullition, on étend à 200 cc. et on fait deux parts de 100 cc., l'une pour le dosage volumétrique, l'autre pour la précipitation du sesquioxyde de fer.

Il faut environ une demi-heure pour effectuer cette opération.

Deux essais ont été faits en même temps par la méthode Pouchet, sur 10 cc. de sang pesant 10 gr. 297 ; les résultats trouvés sont les suivants :

Le dosage volumétrique par le permanganate de potassium a été impossible ; la coloration rose obtenue ne persistait pas. Nous avons ajouté un excès (20 cc.) de solution N/100 de permanganate et au bout d'un quart d'heure le liquide était décoloré. Il reste donc encore dans le liquide de la matière organique solubilisée mais non détruite, qui se brûle au contact du permanganate.

La précipitation par l'ammoniaque a donné les mêmes chiffres pour les deux échantillons de sang.

$\text{Fe}^{203}$  = 0 gr. 008 soit 0,0056 de fer pour 10 gr. 257 de sang,  
c'est à-dire 0 gr. 0544 ‰.

On peut faire à ce procédé quelques reproches. Il est d'abord difficile de savoir pendant combien de

temps on doit chauffer au début avec l'acide azotique. Si le temps de chauffe est insuffisant, on obtient à la fin un liquide coloré en jaune qu'il est impossible de décolorer davantage par addition de nitrate de potasse et qui contient forcément des matières organiques en abondance.

Si on chauffe trop et qu'il y ait un commencement de calcination, le liquide sulfurique noir ne se décolore que très difficilement par addition d'un grand excès de nitrate de potasse et il se fait dans ce milieu de grosses doses de sulfate de potasse, qui cristallise, ce qui oblige à diluer beaucoup le liquide.

Si la destruction n'a pas été suffisante, ce que l'on reconnaît à la coloration jaune ambré du liquide final, il peut arriver que l'ammoniaque ne précipite rien dans ce liquide, ce qui se produit déjà, nous l'avons vu, dans l'emploi des méthodes d'Ogier et de Villiers. Un pareil liquide ne donne pas les réactions du fer ; mais on les obtient très nettement en évaporant à sec, calcinant le résidu au rouge, puis reprenant par de l'acide chlorhydrique. Le fer s'y trouve donc encore à l'état de combinaison organique.

Pour remédier à une partie de ces inconvénients et afin d'appliquer la méthode volumétrique, nous avons opéré ainsi : 10 cc. de sang pesant 10 gr. 297 ont été détruits par le procédé Pouchet, tel que nous l'avons décrit. Le liquide clair obtenu est traité par l'ammoniaque en présence de chlorure d'ammonium. Le précipité de sesquioxyde est lavé, puis dissous dans l'acide sulfurique au tiers. La solution étendue

à 200 cc. avec de l'eau distillée, est divisée en deux parties; sur l'une on dose le fer par le permanganate de potasse, et sur l'autre par précipitation.

Les deux essais ont été faciles à exécuter et nous avons obtenu :

1<sup>er</sup> *Essai*. — pour 10 gr. 297 de sang :

9 cc. 5 de  $\text{MnO}_4\text{K}$  N/100 = 0gr. 00544 fer.

Soit : 0 gr. 0516 ‰.

2<sup>e</sup> *Essai*. — Pour 10 gr. 297 de sang :

0 gr. 0075  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 0,00525 fer.

soit 0,0507 ‰.

La méthode de Pouchet pourrait donc, bien conduite, donner d'assez bons résultats : pourtant dans la plupart des cas ils seront douteux car, bien que supérieure aux autres méthodes, elle ne détruit que rarement la totalité de la matière organique, il peut donc y avoir perte de fer.

6° PROCÉDÉ DENIGÉS. — Tout récemment (1) Denigés, ayant constaté sans doute comme nous l'impossibilité de détruire complètement les matières organiques par les méthodes actuelles, a donné un mode de destruction intégrale. Il utilise l'action oxydante des sels de manganèse en milieu nitrique signalée et appliquée par Villiers et termine par l'action conjuguée des acides sulfurique et azotique. Le mode opératoire très long et très compliqué ne

(1) *Journal de Pharm. et de Chim.* 15 septembre, 1901.

peut être résumé. Il consiste en des additions successives d'acide azotique et d'acide sulfurique avec chauffage plus ou moins intense. Il demande plusieurs heures.

Toujours est-il que d'après l'auteur on peut par ce moyen détruire complètement de gros organes, des cheveux, des os, etc.

7<sup>e</sup> PROCÉDÉ de SCHLAGDENHAUFEN ET PAGEL. — Il est basé sur l'emploi du chlorure de chromyle comme moyen de destruction. Les matières sont chauffées dans une cornue avec un mélange de 2 p. de sel marin, 1 p. de bichromate de potasse et de l'acide sulfurique.

Nous n'avons pas cru devoir expérimenter ce procédé sur le sang, à cause de la présence du chrome, métal qui se place à côté du fer pour ses réactions analytiques et qui pourrait en gêner le dosage, surtout à l'état d'oxyde.

8<sup>e</sup> PROCÉDÉ AUX PERSULFATES ALCALINS. — Plusieurs auteurs, parmi lesquels M. Hugounenq (1) et nous-même (2) avons signalé l'action oxydante énergique du persulfate d'ammonium sur nombre de substances, en particulier sur le sang et sur l'hématine. Il y a formation d'un dépôt jaune de sesquioxyde de fer.

Nous nous sommes demandé si cette réaction pouvait être utilisée pour le dosage du fer dans le sang.

(1) *Journ. chim. et ph.* 1901.

(2) *Bull. scienc. pharm.* 1901.

Elle est simple et facile à appliquer. Voici comment nous avons opéré :

10 cc. de sang non défibriné et non coagulé ont été étendus de 50 cc. d'eau distillée et additionnée de 10 gr. de persulfate d'ammoniaque, puis d'un excès d'ammoniaque. Le tout est laissé pendant 16 heures à la température ordinaire. Le liquide brunit d'abord, mais sans donner de coagulum ou de dépôt, puis s'éclaircit en formant un léger dépôt ocracé au fond du ballon. L'examen du liquide montre qu'il ne contient pas de fer, mais beaucoup de matières organiques. Il ne renferme que des traces de matières albuminoïdes décelables par un léger louche que donnent l'acide acétique et le chlorure de sodium, l'acide azotique, le réactif citro-picrique et une coloration légère par la réaction du biuret.

Le dépôt ocracé, traité par de l'eau acidulée, lui communique les réactions des sels ferriques. Il semble constitué par de l'hydrate ferrique, mélangé de matières grasses ou albuminoïdes. Si on opère à chaud, on détermine la coagulation du sang et les résultats ne sont pas meilleurs.

Nous avons refait deux nouveaux essais avec 10 cc. de sang, 100 cc. d'eau distillée, 30 gr. de persulfate de sodium, puis de l'ammoniaque en excès. Il s'est fait immédiatement un abondant coagulum noirâtre qui s'est, en partie, décoloré, mais n'a pas disparu après 16 heures. Le liquide était exempt de fer, mais riche en substances organiques et le coagulum contenait du fer.

Cette méthode ne détruit donc pas la totalité de la

matière organique : il faudrait la compléter en recueillant le dépôt et le coagulum, puis calciner et doser le fer sur le résidu ; mais alors, elle devient plus longue que celle que nous avons employée.

9<sup>e</sup> PROCÉDÉ AUX PERSULFATES ALCALINS ET AU PERMANGANATE DE POTASSE ACIDE. — En nous préoccupant d'appliquer la méthode précédente, nous avons été amené à étudier les moyens de faciliter l'attaque du sang par les persulfates alcalins et à constater que le permanganate de potassium en solution acide, agit énergiquement dans ce sens.

10 cc. de sang sont additionnés de 50 cc. d'eau, puis de 20 gr. de persulfate d'ammonium ou de sodium et de 30 gr. environ d'acide sulfurique. Dans ce mélange on ajoute, en agitant, une solution assez concentrée de permanganate de potasse, par petites quantités à la fois, jusqu'à coloration rosée persistante. Le liquide mousse abondamment et il s'en dégage une odeur d'ozone, en même temps qu'il s'éclaircit. En quelques minutes, on obtient un liquide incolore, avec précipité brunâtre à la surface. On place le ballon dans un bain-marie et le précipité blanchit. On obtient finalement un liquide incolore, avec un coagulum blanc ou à peine teinté, à sa surface. La décoloration ne se produit bien qu'en milieu fortement acide. Ce liquide donne les réactions des sels ferriques, mais si on le traite par de l'ammoniaque, il ne se précipite pas d'hydrate ferrique.

D'autre part, si l'on veut réduire par le zinc et l'acide sulfurique pour faire un dosage volumétrique, le

liquide jaunit avec odeur de caramel. Les matières organiques ne sont donc pas détruites et abondent dans ce liquide incolore : ce sont elles qui empêchent la précipitation du fer par l'ammoniaque.

En résumé, les méthodes de destruction des corps organiques, habituellement employées en toxicologie, conviennent parfaitement quand il s'agit d'une recherche qualitative du fer, dans un organe ou dans le sang ; aucune ne peut être employée pour effectuer un dosage parce qu'elles ne détruisent qu'incomplètement la matière organique, et que ce qui reste suffit souvent pour empêcher d'appliquer les méthodes habituelles de dosage ou pour fausser les résultats, une partie du fer restant en combinaison et échappant au titrage.

Il est indispensable que la matière organique soit totalement détruite, ce qu'on ne peut obtenir que par l'application d'une température assez élevée. Nous indiquerons plus loin la méthode que nous avons employée, simple et rapide pour de faibles quantités de sang et qui nous a donné d'excellents résultats.

---

## CHAPITRE II

---

### **Vérification et critique des procédés de dosage du fer applicables à de faibles quantités de sang.**

Le dosage du fer dans le sang ne dépend pas seulement de la destruction complète de la matière organique, mais encore de l'exactitude des méthodes de dosage. Celles-ci sont nombreuses, et pour la plupart excellentes, mais elles sont plus ou moins sensibles et par suite ne s'appliquent pas toutes au titrage de faibles quantités de fer.

Notre intention est d'examiner, dans ce chapitre, quels sont les procédés utilisables dans ce cas, comment il faut les appliquer, quels sont les résultats obtenus et de leur comparaison nous déduirons le procédé le plus exact.

Parmi ces méthodes, les unes procèdent par pesée,

d'autres par volumétrie ; les unes s'appliquent aux sels ferreux d'autres aux sels ferriques. Nous les classerons suivant cet ordre, mais nous ne nous occuperons que des procédés qui semblent, de prime abord, convenir au cas qui nous occupe.

Pour effectuer ces essais de dosage nous nous sommes servi d'une solution ainsi composée :

SOLUTION A

|                                      |          |
|--------------------------------------|----------|
| Sulfate ferreux pur cristallisé..... | 2 gr. 50 |
| Acide sulfurique.....                | 5 cc.    |
| Eau distillée.....                   | 1000     |

Cette solution contient environ 0 gr. 50 de fer par litre, c'est-à-dire une dose de fer voisine de celle du sang. Nous la désignerons dans les renseignements qui vont suivre sous le nom de solution A.

PROCÉDÉ PAR PESÉE. — Des différents procédés par pesée nous n'en retiendrons qu'un : la précipitation à l'état de sesquioxyde de fer anhydre.

10 cc. de la solution A sont peroxydés par l'acide azotique, puis additionnés de chlorhydrate d'ammoniaque et d'ammoniaque. Le précipité est recueilli, lavé, séché et pesé.

Deux opérations successives ont été faites.

1<sup>re</sup> *essai*. —  $\text{Fe}^{2\text{O}_3} = 0,0075 = 0,00525$  de fer soit 0,0525 de fer ‰

2<sup>e</sup> *essai*. — «  $0,009 = 0,0063$  de fer soit 0,063 de fer ‰

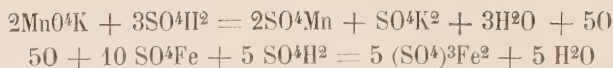
Ces deux résultats diffèrent sensiblement, ce qui n'a rien de surprenant, puisqu'on n'obtient qu'un pré-

cipité insignifiant de sesquioxyde, 8 milligr. environ, difficile à peser exactement sur une balance chargée d'un creuset ; or, une erreur de pesée de 1 milligr. augmente de 7 milligr. le résultat pour 100, c'est-à-dire de  $\frac{1}{7}$ . D'autre part, le sesquioxyde fortement calciné est presque insoluble dans les acides, mêmes bouillants ; il est donc très difficile de débarrasser complètement le creuset de tout l'oxyde de fer pour faire sa tare, d'où cause d'erreur.

Le procédé par pesée est donc à rejeter, à notre avis, quand il s'agit de faibles quantités de sang. Nous estimons que les procédés volumétriques sont plus sensibles et s'appliquent mieux dans ce cas particulier.

#### **A. — Procédés volumétriques s'appliquant aux sels ferreux**

1<sup>o</sup> PROCÉDÉ AU PERMANGANATE DE POTASSE EN L'ABSENCE DE HCl. — Le procédé volumétrique au permanganate de potassium ou méthode de Margueritte s'applique très bien au dosage d'une faible quantité de fer, mais il faut substituer à la liqueur décinormale, habituellement employée, la solution centinormale, c'est-à-dire contenant 0 gr. 316 de permanganate de potassium par litre et dont chaque cc. correspond à 0 gr. 00056 de fer. Nous rappelons que la réaction qui se passe en présence de sels ferreux est la suivante que nous décomposons pour mieux indiquer l'oxydation :



Donc 316 gr. 6 de permanganate oxydent 1520 gr. de sulfate ferreux anhydre correspondant à 560 gr. de fer.

La solution centinormale = 0,316  $\text{MnO}^4\text{K}$  oxyde 0,56 de fer.

Et chaque cc. correspond à 0,00056 de fer.

Pour que les résultats analytiques obtenus par les différentes méthodes soient comparables, nous avons appliqué la méthode au permanganate à l'analyse de la solution de sulfate ferreux (solution A) précédemment indiquée et déjà employée dans le dosage par pesée à l'état des sesquioxyde de fer.

Deux opérations ont été faites sur 10 cc. de cette solution réduite par le zinc et l'acide sulfurique dans une capsule en platine et étendue à 100 cc., en suivant exactement le mode opératoire habituel, mais en tenant compte que pour colorer 100 cc. d'eau distillée il faut une quantité appréciable de solution centinormale de permanganate, environ 0 cc. 3, nombre qu'il faut retrancher du chiffre trouvé.

1<sup>re</sup> opération. — Il a fallu 9 cc.5 de solution N/100  $\text{MnO}^4\text{K}$ .

Pour colorer 100 cc. d'eau distillée, il faut 0 cc. 3.

Donc, 9,5 — 0,3 = 9,2  $\text{MnO}^4\text{K}$  sont employés à oxyder le fer.

$$9,2 \times 0,00056 = 0,005152 \text{ fer pour } 10 \text{ cc.}$$

$$\text{soit } 0,05152 \text{ fer } \text{‰}.$$

2<sup>re</sup> opération. — Il a fallu 9 cc. 6 de solution N/100  $\text{MnO}^4\text{K}$ .

$$9,6 - 0,3 = 9,3$$

$$9,3 \times 0,00056 = 0,005208 \text{ fer pour } 10 \text{ cc.}$$

$$\text{soit } 0,05208 \text{ de fer } \text{‰}.$$

Les résultats très voisins, pour ne pas dire identiques, trouvés dans ces deux opérations montrent que ce procédé est d'une application parfaite pour le dosage de faibles quantités de fer. Il est cependant nécessaire de s'exercer à saisir le changement de teinte du liquide. Une erreur de 0,1 à 0,2 est très possible, mais elle ne change le résultat que de 1 milligr. au plus pour 100 gr. de sang.

2<sup>o</sup> MÉTHODE AU PERMANGANATE DE POTASSIUM EN PRÉSENCE DE HCl.— Le sesqui-oxyde de fer est plus soluble dans l'acide chlorhydrique que dans l'acide sulfurique, d'où l'indication de dissoudre l'oxyde de fer, provenant de la destruction du sang, dans de l'acide chlorhydrique, mais la présence de cet acide fausse les résultats du dosage par le permanganate de potassium. Il se fait, en effet, du chlore qui oxyde une partie du sel ferreux :



Frésenius conseille, pour éviter cette erreur, de faire plusieurs dosages successifs dans le même matras, en ajoutant à nouveau du liquide à doser sur celui qui vient d'être titré, de ne pas tenir compte des deux premiers dosages et de prendre la moyenne des deux suivants.

Zimmermann a conseillé d'ajouter à la liqueur chlorhydrique quelques cc. de solution à 20 % de sulfate manganoux, les résultats obtenus sont alors

exacts, sans qu'on sache quelles réactions se passent entre ces substances.

Nous avons essayé d'appliquer cette méthode d'abord sur la solution de sulfate ferreux (solution A) déjà indiquée, additionnée d'acide chlorhydrique, puis sur de l'oxyde de fer provenant de 10 gr. de sang. Cet oxyde était dissous dans de l'acide chlorhydrique, puis réduit par le zinc, ensuite on ajoutait quelques cc. de solution de sulfate manganoux à 20 % et on titrait au permanganate N/100. Dans les deux cas le procédé a donné des résultats très incertains, car il est impossible de saisir le moment où le liquide se colore en rose. Dès que les premières gouttes de permanganate N/100 tombent dans la solution ferreuse additionnée de sulfate manganoux, il se fait une légère coloration rose qui passe au brun rouge à mesure que le titrage se poursuit, et il est impossible de saisir une teinte de passage.

Cet écueil tient à ce que la solution N/100 de permanganate étant peu colorée n'arrive pas à masquer cette teinte marron du début, due sans doute à la formation d'un sel manganique.

En opérant sur une solution plus riche en fer et avec la solution N/10 de permanganate, on saisit très bien le passage au rose.

Cette méthode s'applique donc à des solutions assez riches en fer ; pour de faibles quantités elle doit être abandonnée.

3° MÉTHODE PAR L'IODE EN PRÉSENCE DU PYROPHOSPHATE DE SODIUM. — André Job (1) a préconisé un procédé permettant d'opérer en milieu alcalin et qui consiste à verser la solution ferreuse à doser dans un excès de solution saturée de pyrophosphate de sodium ; le mélange donne un liquide incolore. En y versant peu à peu une solution titrée de permanganate ou d'iode en présence d'empois d'amidon, le liquide resterait incolore jusqu'au virage qui serait extrêmement net.

Nous avons essayé cette méthode en versant 10 cc. de solution ferreuse (solution A), dans un excès de solution de pyrophosphate de sodium ; il se fait d'abord un précipité blanc qui disparaît. Dans le liquide incolore obtenu nous avons fait tomber de la solution N/100 de permanganate ; il se produit, à un certain moment, et avant que l'oxydation ne soit complète, une coloration jaune qui va s'accroissant vers le rouge, sans qu'à aucun moment on puisse saisir une réaction limite. Cette coloration ne tient pas au sel ferrique formé, car le pyrophosphate double de fer et de sodium est incolore.

Il est plus probable qu'elle est due au produit de réduction du permanganate, peut-être à un pyrophosphate manganique, par analogie avec ce que donne le phosphate manganique qui colore l'eau en rouge rubis. Il est donc impossible d'arriver à un dosage par ce moyen.

Il n'en est pas de même si on emploie la solution

(1) *Acad. des Sciences*, tome, 127 p. 59.

centinormale d'iode en présence d'empois d'amidon ; on arrive à saisir nettement le passage au bleu. Voici comment il faut opérer :

10 cc. de solution de sulfate ferreux (solution A), sont additionnés d'un volume mesuré de solution saturée de pyrophosphate de sodium, jusqu'à redissolution du précipité blanc formé au début ; on ajoute quelques gouttes d'empois d'amidon, puis la solution N/100 d'iode jusqu'à coloration bleue et on note le chiffre obtenu. Le pyrophosphate de sodium étant toujours alcalin, absorbe de l'iode pour son propre compte. On détermine donc, en second lieu, la quantité d'iode N/100 nécessaire pour colorer, en présence d'empois d'amidon, le volume connu, employé dans l'opération précédente, de solution de pyrophosphate. On déduit ce chiffre du premier obtenu et on connaît ainsi la quantité d'iode qu'il a fallu pour oxyder le fer et par le calcul la dose correspondante de fer.

Nous nous sommes assuré que la présence du sulfate de zinc et du sulfate de potasse ne gêne pas le dosage. On peut donc, quand il s'agit de sels ferriques, réduire par le zinc en présence d'acide sulfurique, puis neutraliser exactement par de la potasse et verser le pyrophosphate ; il se fait un précipité blanc de pyrophosphate de zinc qui se dissout dans un excès de réactif et la liqueur est incolore. Avec la solution d'iode N/100, on arrive à 0 cc. 1 ou 0 cc. 2 près.

Pour des doses de fer plus élevées permettant d'employer la solution d'iode N/10, on arrive très exactement.

La moyenne de trois opérations sur 10 cc. de solution A a donné :

$$\begin{aligned} & 8 \text{ cc., } 9 \text{ de solution d'iode N/100} \\ & 8,9 \times 0,00056 = 0,004984 \text{ de fer pour 10 cc.} \\ & \text{Soit } 0,0498 \text{ de fer } \text{‰} \end{aligned}$$

Cette méthode a, comme celle au permanganate, l'inconvénient d'exiger la réduction du sel ferrique en sel ferreux, opération toujours longue.

4<sup>e</sup> MÉTHODE ALCALIMÉTRIQUE. — Lescœur dose le fer en réduisant les sels ferriques par  $\text{H}^2\text{S}$  ou  $\text{SO}^2$ , à l'exclusion du zinc et de l'acide sulfurique, puis il titre alcalimétriquement le sel ferreux par la potasse en présence de phtaléine. Ce procédé ne convient qu'à l'analyse approximative d'une solution concentrée ou d'un sel de fer, mais il est inexact pour de faibles quantités.

En résumé, le dosage de faibles quantités de sels ferreux peut se faire très bien, surtout par la solution centinormale de permanganate de potassium, à la condition qu'il n'y ait pas d'acide chlorhydrique, et aussi par la solution d'iode N/100 en présence de pyrophosphate de sodium ; les autres méthodes sont inapplicables. Le seul reproche à faire à ces deux procédés pour les appliquer à l'analyse du sang, c'est d'obliger à réduire le sel ferrique en sel ferreux, opération toujours longue. C'est ce qui nous a engagé à étudier les méthodes agissant directement sur les sels ferriques.

**B. — Procédés volumétriques s'appliquant aux sels ferriques.**

Pour expérimenter ces procédés nous avons préparé la solution suivante que nous désignerons dans la suite sous le nom de solution B :

SOLUTION B.

|                                                                       |         |
|-----------------------------------------------------------------------|---------|
| Solution officinale de perchlorure<br>de fer, totalement ferrique.... | 2 cc.5  |
| Acide chlorhydrique.....                                              | 10 cc.  |
| Eau distillée Q. S. pour.....                                         | 500 cc. |

Cette solution contient environ 0 gr. 05 de fer  $\%$ , c'est-à-dire une dose voisine de celle du sang normal de l'adulte.

1<sup>o</sup> MÉTHODE DE REMHARDT. — Elle consiste à réduire le sel ferrique en sel ferreux par addition de chlorure stanneux non titré, puis à précipiter l'excès de ce dernier par du bichlorure de mercure, qui est transformé en chlorure mercureux insoluble ; on ajoute ensuite du sulfate manganoux et on titre le sel ferreux par le permanganate.

Cette méthode ne se confond pas avec celle au chlorure stanneux titré indiquée par Frésenius (1), cette dernière est moins sensible.

(1) FRÉSÉNIUS. — *Analyse quantitative du fer.*

Nous avons expérimenté le procédé de Remhardt en prenant 10 cc. de la solution B auxquels nous avons ajouté un excès de chlorure stanneux récemment préparé (jusqu'à ce qu'une goutte du liquide ne vire plus au rose par le sulfocyanate de potassium). On porte à l'ébullition et on y ajoute une solution saturée de bichlorure de mercure tant qu'il se fait un précipité. On filtre, on lave le filtre à l'eau bouillie froide, on ajoute à ce liquide du sulfate de manganèse et un peu d'acide sulfurique et on dose au permanganate de potassium N/100.

Nous avons trouvé 8 cc. 8  $\text{MnO}^4 \text{K}$  N/100.

$$8,8 \times 0,00056 = 0,00492 \text{ de fer pour 10 cc.}$$

soit 0,0492 pour 100 au lieu de 0,05

Ce chiffre est à peu près exact, mais il est assez difficile de saisir le moment où la liqueur se colore en rose. Il se fait ici ce que nous avons déjà signalé pour le dosage des sels ferreux en présence de HCl et du sulfate manganoux, c'est-à-dire, dès le début une coloration brunâtre qui gêne pour apprécier la teinte finale.

Il est très probable que cette méthode donne de bons résultats en présence d'une quantité de fer suffisante pour qu'on puisse employer la solution N/10 de permanganate. Pour de faibles quantités elle est très médiocre.

2° MÉTHODE A L'HYPOSULFITE DE SOUDE ET AU SULFOCYANURE DE POTASSIUM. — Oudemans (1) a établi

(1) Fresenius. — *Analyse quant. du fer.*

une méthode de dosage du fer reposant sur le principe suivant : si, à une dissolution acide de perchlorure de fer on ajoute du sulfocyanure de potassium qui la colore en rouge, puis quelques gouttes de solution d'un sel de cuivre et, enfin, une solution titrée d'hyposulfite de soude, la coloration rouge pâlit peu à peu et disparaît quand tout le fer est ramené à l'état ferreux. Comme il n'est pas facile de saisir le terme final, on le dépasse un peu et l'on ramène la coloration par addition d'une solution titrée d'iode. On connaît ainsi l'excès d'hyposulfite ajouté et, par différence, la quantité qui a été nécessaire pour réduire le sel ferrique ; le calcul donne facilement la proportion de fer correspondante.

Cette méthode, soutenue par Oudemans, a été vivement critiquée par Mohr.

En l'expérimentant sur la solution B, nous avons constaté qu'on arrive quelquefois à de bons résultats, et très facilement ; mais, dans la plupart des cas, il est impossible de saisir la fin du dosage.

Les substances qui interviennent dans cette réaction sont nombreuses : fer, sulfocyanure de potassium, sulfate de cuivre, hyposulfite de soude, iode ; il doit s'établir, entre les combinaisons produites par ces substances, un équilibre instable, de telle sorte qu'il suffit que les proportions mises en présence changent dans deux dosages successifs, pour que la réaction se comporte différemment et qu'il se précipite un sel insoluble.

C'est, en effet, ce qui se produit dans la plupart des cas. L'addition d'hyposulfite titré dans le liquide

rouge amène peu à peu la décoloration, puis, quand la teinte est faible, brusquement le liquide se trouble et il se dépose un précipité brunâtre de sulfocyanure de cuivre empêchant de terminer le dosage. D'autres fois, c'est quand on ajoute la solution d'iode qu'il se dépose de l'iodure cuivreux troublant le liquide. Quelquefois, cependant, le liquide reste limpide jusqu'à la fin et la décoloration se voit très bien; on arrive alors à des chiffres très exacts. Nous n'avons pas cherché à étudier ces causes d'erreur, parce que la méthode suivante, basée sur le même principe, donne des résultats bien supérieurs.

3<sup>o</sup> MÉTHODE A L'HYPOSULFITE DE SOUDE ET AU SALICYLATE DE SOUDE. — Cette méthode repose sur les deux réactions suivantes : le salicylate de soude colore en violet les solutions légèrement acides des sels ferriques, l'addition d'hyposulfite de soude réduit les sels ferriques en sels ferreux, n'agissant plus sur le salicylate et la liqueur se décolore. L'addition d'un sel de cuivre facilite la réduction.

Deux expérimentateurs ont utilisé ces réactions : Haswell et Bruel. Haswell opère à froid. Il place dans une capsule de porcelaine la solution ferrique à doser qui doit être légèrement acide par HCl, puis une pincée de salicylate de soude qui colore le liquide en violet, enfin 10 gouttes d'une solution de sulfate de cuivre à 10 o/o et, dans ce milieu, il laisse tomber une solution titrée d'hyposulfite de soude lentement et en agitant. Le liquide se décolore peu à peu; on s'arrête quand la teinte est nulle ou légèrement bleutée.

Bruel (1) opère à l'ébullition, en l'absence de sulfate de cuivre. Voici comment il conseille d'opérer :

1° Dissoudre 1 gramme de fer pur dans 20 cc. de HCl, ajouter quelques cristaux de chlorate de potasse, de l'eau distillée et faire bouillir jusqu'à disparition d'odeur de chlore. Étendre à 1 litre. Chaque cc. = 0,001 de fer.

2° Faire une solution de 1 gr. d'hyposulfite de soude dans 1 litre d'eau distillée.

3° Titrer cette solution par rapport à celle de fer. Pour cela on met dans un ballon 10 cc. de solution ferrique, 40 cc. d'eau distillée, 0 gr. 10 de salicylate de soude et on porte à l'ébullition. On verse, goutte à goutte, la solution d'hyposulfite dans la solution ferrique bouillante, jusqu'à teinte rosée à peine appréciable. On lit le nombre de divisions employées et on calcule facilement le titre de l'hyposulfite de soude. On peut ensuite, en opérant de même, doser une solution ferrique inconnue. La réaction qui se passe, d'après l'auteur, aboutit à la production d'un hyposulfite double de fer et de sodium :  $S^2O^3Na^2$ ,  $S^2O^3Fe$ .

Ceprocédé, suivant l'expression même de Bruel, est d'une sensibilité exquise. Nous l'avons vérifié et il donne, en effet, des résultats parfaits et constants avec une solution de perchlorure de fer, à la condition d'aller doucement. Voici le résultat de trois dosages faits sur 10 cc. de solution B.

(1) *Acad. Scienc.*, 1883, t. 97, p. 954.

1<sup>re</sup> Opération : 5 cc. d'hyposulfite Na N/100 = 0,05 de fer 0/0.

2<sup>e</sup> Opération = 4 cc. 9 — — = 0,049 —

3<sup>e</sup> Opération. = 4 cc. 95 d'hyposulfite Na N/100 = 0,0495 de fer 0/0.

En réalité, ces deux procédés ne donnent de bons résultats qu'à la condition d'opérer sur une solution de chlorure ferrique étendue et pure, c'est à-dire ne contenant pas ou très peu d'autres sels; il faut aussi que cette solution soit ni trop, ni trop peu acide. Après avoir essayé le procédé Haswell sur la solution B, nous avons obtenu de si bons résultats que nous comptons l'employer exclusivement pour le dosage du sang des nouveau-nés; mais comme, dans ce cas, il faut agir sur un liquide très acide, provenant de l'attaque du sesquioxyle de fer par l'acide chlorhydrique, les résultats qu'a donnés cette méthode ont été médiocres et nous avons dû l'abandonner. Elle peut néanmoins rendre de grands services pour le titrage rapide, par exemple, du perchlorure de fer.

4<sup>o</sup> PROCÉDÉ PAR PRÉCIPITATION A L'AIDE DU NITROSO  $\beta$  NAPHTOL. — Le principe de cette méthode a été indiqué par Jolles (1). Lorsqu'on fait agir sur une dissolution de perchlorure de fer, une solution acétique de nitroso  $\beta$  naphтол  $C^{10}H^6.OH.AzO$ , il se fait une combinaison de formule  $(C^{10}H^6OH.AzO)^3Fe$  insoluble dans ce milieu, ainsi que dans l'acide

(1) *Zeitsch. Anal. Chem.*, t. 36, p. 149. *Bull. Soc. chim.*, Paris, t. 18, p. 696.

acétique à 50 % et qui ne contient, pour un poids moléculaire de 572, que 56 de fer, c'est-à-dire qu'elle représente plus de dix fois le poids du fer engagé. Ce procédé permet donc d'obtenir avec très peu de fer un précipité assez abondant. Le nitroso  $\beta$  naphthol ayant pour poids moléculaire 173, il en faudra  $173 \times 3 = 519$  pour précipiter 56 de fer, soit 9 gr. 268 pour 1 gr. de fer.

Jolles conseille d'employer pour la précipitation une solution contenant 1 gr. de nitroso  $\beta$  naphthol dissous dans 100 cc. du mélange de 250 cc. d'acide acétique cristallisable et 150 cc. d'eau distillée; 4 cc. 6 de cette solution précipitent 5 milligr. de fer.

N'ayant pu nous procurer le *modus faciendi* de Jolles, voici comment nous avons opéré pour déterminer la valeur du procédé :

10 cc. de solution B, représentant environ 5 milligr. de fer, sont additionnés de 10 cc. de solution acétique de nitroso  $\beta$  naphthol à 1 % et de 50 cc. d'eau distillée environ, le tout est versé dans une capsule et chauffé vers 50°. Il se fait un précipité noir qui se sépare très bien du liquide jaune foncé. On lave ce précipité par décantation d'abord, puis sur deux filtres, exactement de même poids, emboîtés l'un dans l'autre, avec de l'acide acétique étendu de son volume d'eau et tiède jusqu'à ce que le liquide de lavage passe incolore ou jaune très pâle. On laisse égoutter, on sèche à l'étuve vers 100° jusqu'à poids constant et on pèse en plaçant chacun des filtres dans un plateau de la balance pour se faire équilibre. Le poids du précipité multiplié par 0,0979 représente le poids du fer.

*1<sup>er</sup> Essai.* — Trouvé 0 gr. 050 de précipité.

$$0,05 \times 0,0979 = 0,004895 \text{ de fer pour } 10 \text{ cc. de solution} \\ \text{soit } 0,04895 \text{ } \text{‰}$$

*2<sup>o</sup> Essai* — Trouvé 0 gr. 051 de précipité.

$$0,051 \times 0,0979 = 0,004992 \text{ pour } 10 \text{ cc. de solution} \\ \text{soit } 0,04992 \text{ } \text{‰}$$

En agissant comme nous venons de l'indiquer, la précipitation se fait bien, le lavage est facile et rapide, mais il est indispensable de ne pas dépasser 50°, sans quoi le précipité se dissout partiellement dans l'acide acétique étendu. En opérant soigneusement, on peut obtenir par cette méthode de bons résultats.

Voici comme nous avons préparé le nitroso  $\beta$  naphtol nécessaire à la précipitation :

On place dans un ballon de 200 cc. environ, muni d'un réfrigérant ascendant une solution de 10 gr.  $\beta$  naphtol dans 60 gr. d'alcool à 95°, puis on ajoute 7 gr. de chlorure de zinc fondu et on chauffe le tout au bain-marie. Quand la liqueur est en pleine ébullition, on verse par l'extrémité du réfrigérant, une solution de 5 gr. de nitrite de sodium dans 5 gr. d'eau, puis on continue à chauffer une heure environ. Il se fait du nitroso  $\beta$  naphtolate de zinc qui se dépose en poudre rouge vif au fond du ballon. On laisse reposer 12 heures environ, on recueille cette poudre, on l'essore et on la lave avec un peu d'alcool froid, puis on la fait bouillir avec un excès de lessive de soude à 10 %/o. Le sel de zinc est décomposé avec formation d'oxyde de zinc qui se dissout dans la

soude et de nitroso  $\beta$  naphtolate de soude qui se précipite sous la forme d'une poudre cristalline verte qu'on essore et qu'on lave plusieurs fois avec un peu d'eau. On la délaye ensuite au mortier avec de l'eau pour faire une bouillie que l'on verse en agitant dans de l'acide chlorhydrique étendu. Au bout d'un instant, il se fait un précipité jaune de nitroso  $\beta$  naphtol. On décante sur un filtre, on lave ce précipité avec un peu d'eau et on sèche à l'étuve à douce température. On obtient ainsi de fines aiguilles cotonneuses, très légères, jaune foncé, fondant à  $109^{\circ}$ , solubles dans le sulfure de carbone, la benzine, l'éther, l'alcool, l'acide acétique cristallisable, peu solubles dans l'eau froide et bouillante, insolubles dans l'acide acétique à 50 %. En les dissolvant dans l'éther et laissant évaporer à l'air, on obtient de petits cristaux. La dissolution alcoolique se colore et donne par évaporation des cristaux brun-rougeâtre plus volumineux.

Le procédé de préparation que nous indiquons est celui qui donne des meilleurs rendements.

5<sup>o</sup> PROCÉDÉ COLORIMÉTRIQUE. — On doit renoncer à employer la coloration violette que donne le salicylate de soude avec les sels ferriques, car elle varie d'intensité avec l'acidité du milieu au point de disparaître complètement. Seule, la coloration rouge donnée par le sulfocyanate de potassium est utilisable, elle est d'ailleurs très sensible.

Le colorimètre de Duboscq est de beaucoup le plus exact, et celui qui permet d'opérer le plus rapidement. Nous rappelons qu'il consiste en deux petites

cuves de verre dans lesquelles on verse, dans l'une, la liqueur type, de richesse en fer connue et dans la l'autre, le liquide à doser. Deux pistons prismatiques en verre peuvent plonger dans les cuves ou en sortir au moyen d'un bouton à crémaillère qui se meut sur une graduation munie d'un vernier.

On connaît ainsi, à tout instant, la distance existant entre le fond du godet et la base du piston, c'est-à-dire, les hauteurs des liquides traversés par les rayons lumineux qui y sont envoyés par un miroir plan inférieur convenablement incliné. Par un dispositif spécial de miroirs réflecteurs, les deux images viennent se juxtaposer pour que l'œil de l'observateur puisse les comparer à l'aide d'une lunette grossissante. Selon l'intensité de coloration, et l'épaisseur des liquides traversés par la lumière, les demi-cercles sont jaune pâle, jaune orangé ou rouge.

Ce colorimètre repose sur ce principe que si on observe deux liquides colorés contenant une même substance, leur richesse est en raison inverse de l'épaisseur qu'il faut donner aux liquides pour que, examinés dans le sens de la verticale, ils présentent une coloration identique.

$$\text{Soit : } \frac{R}{R'} = \frac{h'}{h} \text{ ou } Rh = R'h'$$

$$\text{d'où : } R = \frac{R'h'}{h}$$

Ce qui veut dire que pour titrer une solution, il faut placer dans l'une des cuves une solution type de de richesse connue par exemple 1 g.5 de fer pour

cent et amener le piston dans cette solution jusqu'à la division 10 par exemple. Dans l'autre cuve, verser le liquide à doser et faire varier la position du piston jusqu'à obtention dans le viseur de l'égalité de teinte des deux demi-cercles, par exemple jusqu'à 12,8. On écrit alors que les richesses sont en raison inverse des hauteurs des liquides, soit :

$$\frac{x}{1,5} = \frac{10}{12,8} X = \frac{10 \times 1,5}{12,8} = 1,171 \%$$

Cette méthode simple et rapide de dosage du fer, fort employée quand il s'agit de faibles quantités, est cependant sujette à quelques critiques basées sur des faits expérimentaux, et qui ont trait au degré de dilution de la solution et à l'acidité du milieu.

Tout d'abord, l'œil n'a pas une sensibilité suffisante, variable d'ailleurs avec chaque observateur, pour reconnaître de faibles différences de coloration des deux demi-cercles, et ces différences sont plus difficiles à apprécier dans certaines teintes, malgré l'emploi d'un éclairage parfait et égal des deux côtés.

Nous avons versé dans les deux godets du colorimètre Duboscq, préalablement vérifié, la même solution ferrique colorée en rouge par du sulfocyanate de potassium ; on donnait à l'un des pistons une position connue, que l'on faisait varier pour obtenir des teintes de plus en plus foncées, et l'on cherchait l'égalité de teinte en déplaçant l'autre piston.

La solution étant la même dans les deux godets, on aurait dû trouver les mêmes chiffres pour chacun des deux pistons. Or, voici les chiffres trouvés :

Teinte jaune paille

|     |   |   |
|-----|---|---|
| 1.5 | — | 2 |
| 1.6 | — | » |
| 1.5 | — | » |
| 1.6 | — | » |

Teinte jaune d'or

|     |   |   |
|-----|---|---|
| 4.6 | — | 5 |
| 4.8 | — | » |
| 4.6 | — | » |
| 4.7 | — | » |

Teinte jaune orangé

|     |   |    |
|-----|---|----|
| 9.6 | — | 10 |
| 9.2 | — | »  |
| 9.4 | — | »  |
| 9.6 |   | »  |

Teinte rouge

|      |   |    |
|------|---|----|
| 18.6 | — | 20 |
| 19   | — | »  |
| 18.7 | — | »  |
| 19.1 | — | »  |

On voit par ces chiffres que, dans le rouge, il est plus difficile d'établir l'égalité de teinte. C'est à notre avis le jaune d'or faible qui se prête le mieux à l'observation.

Une autre cause d'erreur tient à ce que l'intensité de la teinte n'est pas en rapport avec la dilution, elle décroît très rapidement avec elle. C'est ainsi que si on représente par 1 l'intensité de coloration d'une solution, cette solution étendue de son volume d'eau au lieu de donner un liquide d'intensité  $1/2$  ne marquera que  $1/4$  ou  $1/5$ .

Ainsi en comparant au colorimètre une solution ferrique additionnée de sulfocyanate et cette même solution rouge étendue de son volume d'eau, les graduations marquent :

AVEC UNE SOLUTION DE COULEUR FONCÉE

| pure | étendue de son volume d'eau |
|------|-----------------------------|
| 2    | 5.8 au lieu de 4            |
| 1.9  | 5.2 » 3.8                   |
| 2.1  | 6 » 4.2                     |
| 5    | 15 » 10                     |

AVEC UNE SOLUTION MOINS COLORÉE

| pure | étendue de son volume d'eau |
|------|-----------------------------|
| 5    | 25.4 au lieu de 10          |
| 6.6  | 35.7 » 13.2                 |

Cette cause d'erreur, due à la dissociation par l'eau du composé colorant, a été signalée par nombre d'auteurs, et Lapique a montré qu'on pouvait y obvier en maintenant, dans un volume donné de liqueur, toujours la même proportion de sulfocyanate par exemple 5 p. 100, 10 p. 200, etc. Alors les intensités colorantes sont proportionnelles aux quantités de fer.

Une autre cause d'erreur beaucoup plus importante et qui doit se produire fréquemment en pratique, c'est que le degré d'acidité du milieu intervient soit pour augmenter, soit pour diminuer l'intensité de la coloration.

Dans un liquide alcalin, le sulfocyanate ne réagit pas sur les sels ferriques qui s'y trouvent sous une forme insoluble. En milieu neutre, ils sont colorés en rouge par le sulfocyanate, mais le maximum de coloration n'est pas obtenu; c'est seulement en milieu légèrement acide qu'il se produit, et nous sommes persuadé que le degré d'acidité nécessaire pour obtenir cette intensité maximum est fonction de la richesse en fer et du volume de liquide et qu'il varie par conséquent avec chaque solution. Quand ce degré d'acidité est dépassé, la teinte s'appauvrit rapidement. Ainsi, vient-on à diluer avec de l'eau distillée une solution ferrique colorée en rouge par du sulfocyanate, jusqu'à ce que la teinte soit à peine sensible, puis à ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique pur, immédiatement la teinte rose apparaît. Or, le même nombre de gouttes d'acide chlorhydrique étendu d'eau distillée ne se colore pas par le sulfocyanate; l'acide n'est donc pas à incriminer.

miner et l'acidité du milieu a ici augmenté la coloration. Plus généralement, elle la diminue, c'est ce que nous avons observé d'une façon très nette dans les essais suivants.

Nous avons versé dans chacun des godets du colorimètre Duboscq, environ 20 cc. d'une même solution ferrique colorée en rouge par addition de sulfocyanate de potassium : les chiffres obtenus à l'observation sont donc à peu près identiques.

Nous avons ensuite ajouté dans le godet de gauche, successivement deux gouttes, puis quatre, puis six gouttes, etc. d'acide chlorhydrique pur, et après chaque addition nous établissions l'identité de teinte par rapport au liquide du godet de droite, qui lui, ne changeait pas. Nous avons pu ainsi constater, comme le montrent les chiffres qui suivent, qu'à mesure qu'on ajoutait HCl, la teinte diminuait, puisqu'il fallait augmenter l'épaisseur du liquide à gauche, pour que les teintes soient identiques pour l'observateur.

|                                             | GRADUATION |        |
|---------------------------------------------|------------|--------|
|                                             | gauche     | droite |
| Solution pure dans chaque godet. . . . .    | 9.5        | 10     |
| + 2 gouttes HCl à gauche. . . . .           | 12.8       | »      |
| + 4       »               »               » | 15.7       | »      |
| + 6       »               »               » | 18.8       | »      |
| + 8       »               »               » | 21.4       | »      |
| + 10      »              »              »   | 24 »       | »      |

L'addition de six gouttes de HCl a donc diminué de moitié la coloration. Ainsi, il résulte de ces faits qu'une certaine acidité est nécessaire pour que la coloration soit au maximum, mais que, d'autre part,

un excès d'acide la diminue. Or, quand on doit doser colorimétriquement une solution ferrique elle est presque toujours acide, mais on ne sait pas quel est son degré d'acidité et par suite, si la teinte rouge obtenue est bien le maximum de coloration possible.

La même objection se présente quand on prépare la solution titrée type ; selon qu'elle sera neutre ou plus ou moins acide elle présentera des colorations différentes, de telle sorte que plusieurs solutions titrées, contenant exactement la même quantité de fer, mais plus ou moins acides, donneront des teintes différentes.

Nous ne signalerons que pour mémoire l'influence bien connue d'un plus ou moins grand excès de sulfocyanate. Pour une même dose de fer quelque faible soit-elle, plus on ajoute de sulfocyanate et plus la coloration est foncée.

Ainsi les trois solutions titrées suivantes contenant la même dose de fer 0 gr. 00056 sous forme de 1 cc. de solution centinormale de sulfate ammoniacoferrique (obtenu en oxydant par HCl et  $\text{ClO}^3\text{K}$  la solution centinormale de sulfate double d'ammoniaque et de fer) et des quantités croissantes de solution de sulfocyanate de potassium à 10 %, présentent trois colorations différentes d'autant plus foncées qu'il y a plus de sulfocyanate.

|                |                        |                               |                                 |        |
|----------------|------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------|
| 1 <sup>o</sup> | 1 cc., solut. ferrique | + 40 cc. sol. de sulfocyanate | + $\text{H}^2\text{O}$ q. s. p. | 50 cc. |
| 2 <sup>o</sup> | —                      | + 30 cc.                      | —                               | —      |
| 3 <sup>o</sup> | —                      | + 49 cc.                      | —                               | —      |

Il semble cependant qu'en présence d'une si faible quantité de fer la première dose de 10 cc. de sulfocyanate soit suffisante pour obtenir la coloration maxima.

Les deux solutions suivantes contenant une même dose de fer, très faible cependant, sont également diversement colorées, la plus foncée correspondant à l'excès de sulfocyanate :

|                                               |                                                 |
|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| 1° Fer à l'état ferrique 0 gr. 00028          | 2° Fer à l'état ferriq. 0 gr. 0,00028           |
| Sol. sulfocyanate K à 10% 15 cc.              | Sol. sulfocyanate K à 10% excès                 |
| H <sup>2</sup> O dist. q. s. pour . . 100 cc. | H <sup>2</sup> O dist. q. s. pour . . . 100 cc. |

Il est donc indispensable d'employer, pour les solutions à doser comme pour la solution titrée, exactement la même quantité de sulfocyanate pour le même volume de liquide. C'est d'ailleurs l'opinion de Lapique.

Malgré ces quelques critiques faites au procédé colorimétrique, nous avons voulu l'appliquer au dosage de quelques faibles échantillons de sang d'enfants nouveau-nés et nous avons obtenu des chiffres beaucoup trop faibles 0,027 à 0,033 de fer %, alors que les méthodes volumétriques donnaient des chiffres voisins de 0,060, doses plus vraisemblables. Nous opérions en milieu acide, contenant de très faibles quantités de fer, environ 0 gr. 00112 % fourni par 3 gr. de sang environ. Nous avons cherché à faire des essais colorimétriques différents avec plusieurs échantillons du même liquide, par exemple en neutralisant par de la potasse, puis acidifiant légèrement par HCl ; ou en

évaporant le liquide presque à sec pour chasser l'excès de HCl, puis reprenant par l'eau; enfin, en étendant fortement le liquide d'eau, mais avec chaque essai nous obtenions des chiffres différents, tous trop faibles.

Bien que Lapicque ait préconisé la méthode colorimétrique pour le dosage du fer dans le sang, nous avons cru devoir la rejeter, non pas que nous la considérions comme mauvaise, les résultats très nombreux obtenus par Lapicque prouvent le contraire, mais parce qu'elle ne nous a pas satisfait; peut-être est-ce dû à ce que nous avons omis quelques-unes des précautions indiquées par l'auteur. Selon lui il faut opérer sur une quantité de fer voisine de 1 milligramme, l'amener en dissolution dans 25 cc. de liquide, y ajouter 0 gr. 50 de sulfocyanate d'ammoniaque, un excès d'acide sulfurique et comparer les liqueurs, non pas entre elles, mais avec un verre coloré étalon. Nous répétons que le degré d'acidité doit probablement intervenir, au moins avec l'acide chlorhydrique, même en léger excès, pour diminuer la coloration.

Nous n'avons pas cru devoir insister, parce que la méthode volumétrique au permanganate de potassium nous avait donné de bons résultats, et qu'avec elle on peut, comme nous le montrerons dans le chapitre suivant, effectuer un dosage de fer, même sur 1 gr. de sang.

Il y a encore bien d'autres procédés de dosage du fer, mais il nous a semblé que ces méthodes ne pouvaient pas s'appliquer à de petites quantités et,

en tous cas, ne valaient sûrement pas celles précédemment étudiées.

En somme, de tous ces procédés de dosage, quatre seulement méritent d'appeler notre attention comme susceptibles de donner de bons résultats avec de faibles quantités de sang, ce sont : le procédé au permanganate de potassium, la méthode de Haswell, celle de Bruel et enfin celle au nitroso  $\beta$  naphtol. Il reste à déterminer quel est le degré de sensibilité de chacune de ces méthodes.

---

## CHAPITRE III

**Comparaison, au point de vue de l'exactitude et de la sensibilité, entre les principales méthodes de dosage du fer signalées précédemment.**

Nous venons de dire que quatre méthodes seulement sont capables de donner de bons résultats pour le dosage du fer dans de faibles quantités de sang. Nous allons indiquer dans ce chapitre, pour quelques essais, comment chacune de ces méthodes se comporte en présence de doses de fer très faibles et nous en déduirons la méthode la plus sensible et la plus exacte.

Nous avons employé pour ces recherches une solution de perchlorure de fer très voisine comme composition de la solution B signalée dans le chapitre précédent, c'est-à-dire d'une teneur en fer voisine de celle du sang. Nous avons fait un dosage successivement sur 10 cc. de cette solution correspondant à

0 gr. 006 de fer environ, puis sur 5 cc., puis sur un 1 cc. représentant seulement 0,0006 de fer.

Comme cette solution a sensiblement la teneur en fer du sang, il s'en suit que les résultats qu'elle donne, s'obtiendraient également en employant la même quantité de sang.

#### 1<sup>o</sup> MÉTHODE AU PERMANGANATE DE POTASSIUM.

40 cc. de la solution ferrique sont mis dans une capsule de porcelaine avec 5 cc. environ d'acide sulfurique pur, on chauffe doucement jusqu'à ce que l'eau soit évaporée et que les fumées blanches d'acide sulfurique apparaissent; l'acide chlorhydrique est chassé dans cette opération.

On laisse refroidir, on ajoute de l'eau distillée, puis de la grenaille de zinc pure pour réduire le sel ferrique en sel ferreux. On étend ensuite à 200 cc. dont on fait quatre parts de 50 cc., représentant chacune 10 cc. de solution ferrique primitive, sur lesquelles on dose le fer avec la solution N/100 de permanganate.

Les résultats trouvés sont les suivants :

1<sup>o</sup> Sur 10 cc. de solution ferrique. — 3 essais.

1<sup>er</sup> Essai. Trouvé 10 cc. 55 de  $\text{MnO}^4\text{K}$  N/100.

2<sup>o</sup> — — 10 cc. 65 — —

3<sup>o</sup> — — 10 cc. 65 — —

Chaque cc. de  $\text{MnO}^4\text{K}$  N/100 égalant 0,00056 de fer, la richesse est de  
 $10,65 \times 0,00056 \times 10 = 0,0596$  fer %.

2° Sur 5 cc. de solution ferrique.

Trouvé 5 cc. 35 de  $\text{MnO}^4\text{K N}/100$ .

$$5,35 \times 0,00056 \times 20 = 0,0599 \text{ fer } \text{‰}.$$

3° Sur 1 cc. de solution ferrique.

Trouvé 1 cc. 05  $\text{MnO}^4\text{K N}/100$

$$1,05 \times 0,00056 \times 100 = 0,0588 \text{ fer } \text{‰}.$$

La méthode au permanganate donne donc des résultats très concordants dans plusieurs essais successifs. Elle s'applique aussi à de très faibles doses de fer, puisque avec 1 cc. de solution représentant environ 0,0006 de fer, les chiffres obtenus sont justes. Elle est donc exacte et sensible et peut parfaitement permettre de doser le fer contenu dans 1 cc. de sang.

## 2° MÉTHODE DE BRUEL.

1° Sur 10 cc. de solution ferrique :

Trouvé 10 cc. 8 hyposulfite Na N/100

$$10,8 \times 0,00056 \times 10 = 0,06 \text{ fer } \text{‰}.$$

2° Sur 5 cc. de solution ferrique :

Trouvé 6 cc. hyposulfite Na N/100

$$6 \times 0,00056 \times 20 = 0,0672 \text{ fer } \text{‰}.$$

3° Sur 1 cc. de solution ferrique :

Trouvé 1 cc. 4 hyposulfite Na N/100

$$1,4 \times 0,00056 \times 100 = 0,0784 \text{ fer } \text{‰}.$$

Le chiffre de 0,06 obtenu avec 10 cc. de solution ferrique se rapproche beaucoup des chiffres donnés par le permanganate, il peut donc être considéré

comme exact; les autres nombres sont beaucoup trop élevés.

La méthode de Bruel ne donnerait donc des résultats exacts qu'avec au moins 10 cc. de sang, au-dessous les doses de fer seraient trop faibles et la méthode pas assez sensible.

### 3<sup>o</sup> MÉTHODE DE HASWELL (A FROID).

1<sup>o</sup> Sur 10 cc. de solution ferrique :

Trouvé 11 cc. 7 d'hyposulfite Na N/100  
 $11,7 \times 0,00056 \times 10 = 0,0645$  fer ‰

Sur 5 cc.

Trouvé 6 cc., 4 hyposulfite Na N/100  
 $6,4 \times 0,00056 \times 20 = 0,07168$  fer ‰

Sur 1 cc.

Trouvé 1 cc., 6 hyposulf. N/100.  
 $1,6 \times 0,00056 \times 100 = 0,0896$  fer ‰.

Cette méthode est donc moins sensible que les précédentes et ne s'applique qu'à des doses plus élevées de fer. La principale cause des erreurs produites tient à ce que la réaction finale de décoloration du liquide n'est pas toujours facile à saisir.

### 4<sup>o</sup> MÉTHODE DE HASWELL (A CHAUD).

En comparant les méthodes de Bruel et de Haswel qui emploient l'une et l'autre de l'hyposulfite de soude titré, on constate que d'une part la chaleur,

d'autre part l'addition de sulfate de cuivre facilitent la réaction. Nous avons donc songé à essayer le procédé Haswell à l'ébullition.

*Sur 10 cc. solution ferrique.*

Trouvé 10 cc. 4 hyposulf. Na N/100.  
 $10,4 \times 0,00056 \times 10 = 0,0582 \text{ fer } \%$ .

*Sur 5 cc.*

Trouvé 5,4 hyposulf. N/100.  
 $5,4 \times 0,00056 \times 20 = 0,060 \text{ fer } \%$ .

*Sur 1 cc.*

Trouvé 1 cc. 1 hyposulf. N/100.  
 $1,1 \times 0,00056 \text{ fer} \times 100 = 0,0616 \text{ fer } \%$ .

Ainsi employé, le procédé Haswell est exact et sensible, mais la présence d'un excès ou d'un manque d'acidité ainsi que de sels étrangers, nuit à la réaction finale et avec le sang, on n'obtient pas des résultats aussi nets.

## 5<sup>o</sup> MÉTHODE AU NITROSO $\beta$ NAPHTOL

*Sur 10 cc. de solution ferrique :*

Le poids du précipité est de 0 gr. 057.  
 $0,057 \times 0,0979 \times 10 = 0,0558 \text{ fer } \%$ .

*Sur 1 cc. de solution ferrique :*

Le précipité pèse 0,006.  
 $0,006 \times 0,0979 \times 100 = 0,0587 \text{ fer } \%$ .

Cette méthode est également sensible et peut s'appliquer au dosage de 1 cc. de sang, bien que la pesée

devienne alors délicate ; elle a l'inconvénient d'être beaucoup plus longue que les autres.

En résumé, la méthode qui semble la plus exacte et la plus sensible, est celle au permanganate de potassium. C'est elle que nous avons utilisée presque exclusivement pour le dosage du sang des enfants nouveau-nés. Dans quelques cas où nous possédions une quantité de sang assez forte, nous avons employé le procédé d'Haswell à chaud, parce qu'il est très vite exécuté.

---

## CHAPITRE IV

---

### **Notre procédé de dosage**

Nous avons établi que les méthodes habituellement employées en toxicologie pour la destruction des matières organiques ne sont pas applicables au dosage du fer dans le sang, parce que la destruction n'est pas totale et qu'ainsi on s'expose à laisser du fer en combinaison, lequel échappera à l'analyse, et que, d'autre part la présence de produits organiques dans le liquide gêne l'emploi des procédés habituels de dosage du fer. Nous croyons que seule, la calcination est capable de produire une destruction totale, mais elle doit être peu prolongée pour ne pas insolubiliser l'oxyde de fer.

**DESTRUCTION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE.**— La calcination faite dans les conditions ordinaires oblige à dés-

sécher d'abord le sang au bain-marie, ensuite à chauffer sur un bec de Bunsen, ou sur un bec à soufflerie, on mieux dans un four à moufle et à maintenir au rouge pendant un temps assez long, plusieurs heures, le sang se brûlant très difficilement à cause de la grosse quantité de matière albuminoïde qu'il contient. Pendant cette longue calcination l'oxyde de fer devient très difficilement soluble dans les acides.

Nous avons songé à employer, pour cette destruction d'une faible dose de sang, le mélange oxydant souvent employé dans les laboratoires, c'est-à-dire azotate de potassium, carbonate de potassium et carbonate de sodium. La proportion de chaque substance a une certaine importance; avec les mélanges trop riches en nitrate la masse fuse, s'enflamme brusquement avec de nombreuses projections; si la dose des carbonates est trop élevée, la destruction se fait mal ou il faut un gros excès de poudre. Après de nombreux essais, effectués en détruisant 10 grammes de sang de bœuf avec des poudres plus ou moins riches en nitrate, nous avons trouvé que le mélange qui convient le mieux est le suivant, que nous appellerons dans la suite poudre nitratée :

|                                        |           |
|----------------------------------------|-----------|
| Nitrate de potasse pulv. ....          | 8 parties |
| Carbonate de potassium pur et anhydre. | 1 —       |
| Carbonate de sodium pur et anhydre..   | 1 —       |

Le tout pulvérisé, mélangé au mortier et conservé dans un flacon sec et bouché. On l'emploie en proportion un peu supérieure à celle du sang coagulé

ou non. On doit l'examiner au préalable pour y constater l'absence de fer.

Voici comment nous l'utilisons :

Un poids connu de sang, 10 gr. par exemple, coagulé ou non, est placé dans une capsule de platine de 100 cc. environ, et sans avoir subi de dessiccation préalable, ce qui est inutile, est additionné de 10 à 12 gr. environ de poudre nitratée que l'on répartit dans toute la masse du sang. On chauffe ce mélange, de préférence sur un bec à soufflerie, doucement d'abord, pour chasser l'eau, ensuite un peu plus fort, mais en réglant le chauffage pour que l'attaque ne soit pas trop intense. Le mélange de sels fond et peu à peu le sang s'attaque. Il forme une masse coagulée animée d'un mouvement giratoire à la surface du liquide. De très légers pétilllements avec de petites étincelles se produisent dans la capsule indiquant que la combustion se fait. Quand toute la masse charbonneuse a disparu, ce qui se voit très bien, et que le liquide est clair, on laisse refroidir. Cette opération bien conduite demande 2 ou 3 minutes au plus.

Si on chauffe convenablement, c'est-à-dire progressivement, la masse ne prend pas feu et on n'a pas à craindre de pertes par projections, les bords de la capsule restant indemnes. Des dosages nous ont d'ailleurs montré qu'on obtenait le même chiffre de fer, après plusieurs destructions de divers échantillons du même sang. Il y a là un petit coup de main à saisir, mais qui s'obtient facilement après deux ou trois essais.

Dans cette calcination, le charbon du sang est

brûlé à l'aide de nitrate de potasse qui se transforme en nitrite, d'où la présence de grandes quantités de ce sel dans les eaux de lavage qui, au contact de l'acide chlorhydrique, dégagent à froid des vapeurs nitreuses.

Il est bien évident que ce procédé de calcination n'est pratique que s'il s'applique à de faibles quantités de sang, 20 à 25 gr. au plus.

Par refroidissement, le tout se prend en masse cristalline. On ajoute un peu d'eau distillée dans la capsule et on chauffe à l'ébullition jusqu'à désagrégation de cette croûte cristalline et dissolution de tout ce qui est blanc. L'excès de nitrate et de carbonates se dissout dans l'eau, et il reste une poudre rougeâtre constituée par du sesquioxyde de fer, mélangé de carbonate de fer. On jette sur un filtre sans plis et en papier bien exempt de fer, on lave plusieurs fois la capsule à l'eau bouillante, on jette sur le filtre et sans s'inquiéter du dépôt rougeâtre encore adhérent à la capsule, on lave à l'eau chaude l'oxyde de fer sur le filtre jusqu'à ce que le liquide de lavage ne précipite plus l'azotate d'argent (absence de nitrite et de carbonates). Si l'on ajoute à ce liquide de lavage du sulfocyanate de potassium, on obtient une belle coloration rouge qui laisserait croire que du fer est entraîné, mais il n'en est rien. Cette coloration est due à la présence du nitrite de potassium, qui donne en effet cette réaction, mais elle disparaît à chaud, tandis qu'elle persiste quand il s'agit d'un sel ferrique.

Le filtre humide est placé dans la capsule de pla-

tine et arrosé de quelques centimètres cubes d'acide chlorhydrique pur étendu de deux volumes d'eau distillée. On chauffe vers 40 à 50°, l'oxyde et le carbonate se dissolvent. On ajoute un peu d'eau distillée, on délaye le tout, on filtre et on lave plusieurs fois, avec de petites quantités d'eau distillée chaude, la capsule et le filtre, jusqu'à ce que une goutte de ce liquide de lavage ne se colore plus en rose par le sulfocyanate de potassium. On obtient ainsi un liquide contenant en dissolution tout le fer du sang, en grande partie à l'état de perchlorure de fer.

Lorsqu'on voulait titrer le fer par la méthode de Hasvell, on ajoutait à ce liquide quelques cristaux de chlorate de potasse pour peroxyder tout le fer, on évaporait jusqu'à ce que tout le chlorure produit fut chassé et on procédait au dosage ; mais le plus souvent on lui faisait subir les manipulations suivantes en vue de lui appliquer la méthode de dosage au permanganate.

On verse le liquide dans une capsule de porcelaine avec 10 gr. environ d'acide sulfurique pur, on porte à l'ébullition que l'on maintient jusqu'à ce que toute l'eau se soit évaporée et qu'il ne reste plus dans la capsule que l'acide sulfurique, ce que l'on reconnaît à ce qu'il se dégage des fumées blanches. Cette opération a pour but de chasser l'acide chlorhydrique qui gênerait le dosage. Ce liquide sulfurique est souvent légèrement coloré en brun, par un peu de matière organique provenant de l'action de l'acide chlorhydrique chaud sur le filtre ; on le décolore en ajoutant quelques pincées de nitrate de potasse, on chauffe

tant qu'il se dégage des vapeurs nitreuses, puis on laisse refroidir, on étend d'eau distillée, et dans cette solution on dose le fer.

DOSAGE DU FER. — La solution ferrique est réduite par le zinc pur jusqu'à ce que une goutte ne colore plus la solution de sulfocyanate, on étend à 100 cc. et on dose le fer, avec les précautions habituelles, par la solution de permanganate de potassium centi-normale, dont 1 cc. correspond à 0 gr. 00056 de fer. Le nombre de cc. N, de solution de permanganate employée est noté, mais il faut lui faire subir une réduction, due à ce que pour colorer 100 cc. d'eau distillée, il faut une quantité appréciable de permanganate N/100, environ 0 cc. 3.

$$(N - 0,3) \times 0,00056$$

représente la dose de fer pour la quantité de sang employée ; on calcule pour 100 gr. de sang.

Il est indispensable d'employer la solution de permanganate N/100 ; avec la solution N/10, il faut environ 1 cc. pour 10 gr. de sang, les erreurs sont donc faciles. On peut reprocher à la solution N/100 de se réduire rapidement, ce qui est vrai et ce qui oblige à renouveler souvent sa liqueur, tous les trois ou quatre jours ; mais il est facile de la préparer en pesant simplement la dose voulue, 0 gr. 316, dissolvant dans l'eau et sans avoir à la titrer, une fois faite. Il est, en effet, démontré que le permanganate de potassium bien cristallisé, en aiguilles brun foncé, sans poussière rougeâtre à la surface,

tel que le livre le commerce est pur et titre entre 99 et 100 % de sel pur. Si, pourtant, on voulait vérifier le titre de la liqueur N/100, nous croyons qu'il est plus simple et plus rapide d'employer, selon les conseils de Mohr, le sulfate double de fer et d'ammoniaque cristallisé, plutôt que de dissoudre un fil de fer dans de l'acide sulfurique comme on le fait habituellement. Ce sel peut, en effet, se préparer d'avance et il se conserve longtemps sans altération dans un flacon bien bouché.

Voici comment on le prépare :

On fait un mélange de 1 partie d'acide sulfurique avec 2 parties d'eau ; on en prélève la moitié que l'on chauffe en présence d'un excès de pointes de Paris, sans rouille, jusqu'à cessation de dégagement d'hydrogène. L'autre moitié est neutralisée par du carbonate d'ammoniaque qu'on introduit en poudre grossière dans le liquide légèrement chauffé. On acidule de nouveau ces deux solutions et on les filtre séparément, puis, on les mélange à chaud dans une capsule de porcelaine, on agite jusqu'à complet refroidissement et on laisse déposer. Après quelques heures, on sépare les cristaux formés, on les égoutte sur un entonnoir, on les lave avec un mélange de 2 p. d'alcool et 1 p. d'eau, on les sèche sur un papier filtre et on les enferme dans un flacon sec et bien bouché. Ils répondent à la formule  $(\text{SO}_4)^2(\text{AzH}_4)^2\text{Fe} + 6 \text{H}_2\text{O}$  dont le poids moléculaire est 392.

Pour titrer le permanganate N/100, on ajoute à environ 50 cc. d'eau distillée, 2 cc. d'acide

sulfurique, une pincée de bicarbonate de soude et enfin 0 gr. 392 de sel ferroso-ammonique, on agite jusqu'à dissolution, et on complète à 100 cc. On obtient ainsi une solution ferreuse centinormale, dont 10 cc. exigent, pour être oxydés, 10 cc. de solution centinormale de permanganate.

Dans quelques cas, où la quantité de sang était suffisante, nous avons appliqué comme contrôle du procédé au permanganate, la méthode de Haswell ; voici comment nous opérons dans ce cas. Le liquide provenant de la destruction du sang, préparé comme nous l'indiquons précédemment, était additionné de quelques centimètres cubes d'une solution de salicylate de soude, puis, peu à peu, en agitant, d'une solution aqueuse assez concentrée de potasse pure, jusqu'à obtention d'une coloration violette faible, mais nettement perceptible. Cette opération a pour but de neutraliser la plus grande partie de l'acide chlorhydrique libre qui empêche la coloration violette de se produire. Si l'on atteint ou si l'on dépasse la neutralisation, le liquide violet vire au jaune ; il suffit alors d'ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique, jusqu'à obtention de la teinte violette faible. On ajoute ensuite 10 gouttes environ de solution de sulfate de cuivre à 10 %, on porte à l'ébullition et dans ce liquide bouillant, on laisse tomber goutte à goutte, et en agitant, la solution centinormale d'hyposulfite de soude, jusqu'à décoloration ou obtention d'une teinte bleue verdâtre. Chaque cc. de solution N/100 d'hyposulfite employé correspond à 0,00056 de fer. Il est facile de calculer la dose pour 100 gr. de sang.

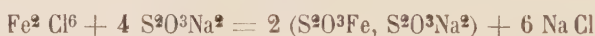
Pour nous aider à connaître la réaction qui se passe dans ce dosage, nous avons titré, par le permanganate de potassium N/100, une solution de sulfate de fer et d'ammoniaque, puis, après l'avoir oxydée par l'acide chlorhydrique et le chlorate de potasse, nous l'avons titrée de nouveau par l'hyposulfite de soude N/100, et nous avons constaté que le nombre de cent cubes employés est le même pour les deux solutions titrées. Donc, la solution centinormale d'hyposulfite correspond à la solution centinormale de permanganate, c'est-à-dire à 0 gr. 00056 par cc., soit 56 de fer pour 248 d'hyposulfite.

Donc, pour 56 de fer, ou un atome, il faut une molécule d'hyposulfite ; pour 2 atomes ou  $\text{Fe}^2$ , il faut 2 molécules d'hyposulfite.

La réaction qui se produit dans ce dosage se fait donc entre une molécule de perchlorure de fer  $\text{Fe}^2 \text{Cl}^6$  et 2 molécules d'hyposulfite.

On peut écrire de diverses façons cette réaction.

Bruel indique qu'il se fait de l'hyposulfite double de fer et de soude ; il faut alors écrire :



ce qui est en contradiction avec la dose d'hyposulfite nécessaire (2 mol.).

La réaction la plus simple qui puisse se passer est la suivante :

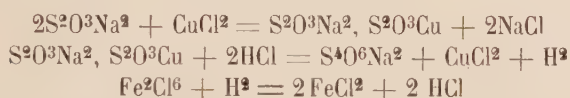


C'est-à-dire que le sel ferrique est réduit en chlorure ferreux avec formation de tétrathionate et de chlorure de sodium.

Comme la présence de l'acide chlorhydrique est indispensable au dosage, mais qu'il suffit d'une faible quantité, on peut le faire intervenir dans la réaction et admettre qu'il décompose l'hyposulfite avec dégagement d'hydrogène qui réduit le sel ferrique en sel ferreux :



Pour expliquer l'action de trace de sulfate ou de chlorure de cuivre, on peut écrire :



La réaction se passe bien entre deux molécules d'hyposulfite de soude et une molécule de perchlorure de fer comme l'exige la théorie et il y a constamment régénération de l'acide chlorhydrique et du sel de cuivre, ce qui est exact en pratique puisqu'une faible quantité de ces corps suffit pour le dosage.

Nous avons essayé de remplacer le sulfate de cuivre par le chlorure de manganèse, le sulfate de manganèse, le bichlorure de mercure, mais sans succès.

En résumé, la méthode de destruction que nous avons choisie permet une destruction rapide et complète sans crainte de pertes si on opère convenablement; le dosage du fer s'effectue rapidement et exactement.

Nous allons appliquer cette méthode à l'analyse de 25 échantillons de sang d'enfants nouveau-nés.

## CHAPITRE V

---

### **Dosage du fer dans le sang d'enfants nouveau-nés.**

Nous avons dit, au commencement de ce travail, que le dosage du fer dans le sang des jeunes enfants présentait une importance toute spéciale, due à ce qu'il est possible, à l'aide des résultats obtenus, d'établir si les conceptions de Bunge sont applicables à l'espèce humaine, et si l'enfant apporte en naissant une provision de fer fixée dans quelques tissus ou organes, et destinée à parer à l'insuffisance en fer du lait maternel, ou s'il apporte simplement une provision d'hémoglobine. Pour fixer nos connaissances à ce sujet, nous avons analysé, au point de vue de leur teneur en fer, 25 échantillons de sang d'enfants nouveaux-nés. Chaque échantillon correspondait au

sang d'un seul sujet. Il était prélevé immédiatement après l'accouchement, au moment de la section du cordon et on recueillait indifféremment le sang du bout placentaire ou du bout fœtal. Une analyse de Poggiale, précédemment citée, montre que ces deux liquides ont sensiblement la même composition.

On le recueillait dans un flacon numéroté et on notait aussi quelques renseignements sur la marche normale ou anormale de l'accouchement, le poids de l'enfant, l'état et l'âge de la mère, le poids de sang recueilli, etc.

Ces divers renseignements ont été enregistrés dans le but de déterminer l'influence possible de l'état de santé de la mère et de l'enfant sur la teneur en fer du sang du nouveau-né ; ils sont consignés dans le tableau suivant. La première colonne contient un numéro d'ordre des échantillons ; la deuxième indique l'état de santé de la mère et les tares pathologiques qu'elle possède ; la troisième, son âge ; la quatrième, de quelle façon s'est effectué l'accouchement ; la cinquième, l'état de santé de l'enfant à sa naissance ; la sixième, son poids ; la septième, le poids du sang recueilli et analysé pour chaque échantillon, et enfin, la dernière colonne contient la proportion en grammes de fer contenu dans 100 grammes de sang.

Nous avons effectué tous ces dosages par le procédé que nous avons décrit au chapitre précédent.

| N <sup>o</sup>                                          | ÉTAT DE SANTÉ<br>DE LA<br>MÈRE | AGE<br>de la Mère | Accouchement | ENFANT         | POIDS<br>de<br>l'enfant | POIDS<br>du sang<br>recueilli | QUANTITÉ<br>de fer<br>pour cent |
|---------------------------------------------------------|--------------------------------|-------------------|--------------|----------------|-------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
|                                                         |                                | ans.              |              |                | kilogs                  | grammes                       | grammes                         |
| 1                                                       | Bon.                           | 33                | Normal.      | Vigoureux.     | 3.100                   | 3.825                         | 0.060                           |
| 2                                                       | »                              | 27                | »            | Très vigoureux | 4.080                   | 13.10                         | 0.0427                          |
| 3                                                       | »                              | 37                | De 8 mois.   | Bien portant.  | 1.795                   | 2.423                         | 0.0554                          |
| 4                                                       | »                              | 21                | Normal.      | »              | 2.445                   | 14.752                        | 0.0493                          |
| 5                                                       | Syphilitique.                  | 28                | »            | »              | Gros                    | 9.51                          | 0.0577                          |
| 6                                                       | Bon.                           | 22                | »            | »              | 3.290                   | 5.921                         | 0.0810                          |
| 7                                                       | Assez bon.                     | 20                | »            | Chétif.        | 1.640                   | 9.844                         | 0.0605                          |
| 8                                                       | Bon.                           | 21                | Long.        | Vigoureux.     | 3.250                   | 7.97                          | 0.0590                          |
| 9                                                       | «                              | 25                | Normal.      | »              | 3.680                   | 12.275                        | 0.0501                          |
| 10                                                      | Nerveux.                       | 23                | Forceps.     | »              | 2.595                   | 13.415                        | 0.0660                          |
| 11                                                      | Bon.                           | 27                | Normal.      | »              | 2.640                   | 6.547                         | 0.0641                          |
| 12                                                      | »                              | 23                | »            | »              | 1.850                   | 12.375                        | 0.0597                          |
| 13                                                      | Albumine.                      | 21                | Forceps      | »              | 3.260                   | 11.571                        | 0.0620                          |
| 14                                                      | Bon.                           | 25                | Normal.      | »              | 3.900                   | 7.225                         | 0.0700                          |
| 15                                                      | »                              | 20                | Forceps.     | En asphyxie.   | 2.370                   | 7.033                         | 0.0660                          |
| 16                                                      | »                              | 22                | Normal.      | Bien portant.  | 3.500                   | 9.618                         | 0.0634                          |
| 17                                                      | Tuberculeux.                   | 26                | Forceps.     | Petit.         | 2.750                   | 14.177                        | 0.0474                          |
| 18                                                      | Bon.                           | 18                | Normal.      | Bien portant.  | 3.700                   | 7.258                         | 0.0589                          |
| 19                                                      | »                              | 31                | »            | »              | 3.205                   | 4.865                         | 0.0790                          |
| 20                                                      | »                              | 33                | Forceps.     | »              | 3.815                   | 7.697                         | 0.0516                          |
| 21                                                      | »                              | 23                | Normal.      | »              | 3.500                   | 13.20                         | 0.0678                          |
| 22                                                      | »                              | 21                | »            | »              | 3.400                   | 4.20                          | 0.0626                          |
| 23                                                      | »                              | 18                | »            | »              | 3.270                   | 22.05                         | 0.0726                          |
| 24                                                      | »                              | 25                | »            | »              | 3.010                   | 15.24                         | 0.0543                          |
| 25                                                      | »                              | 21                | »            | Chétif.        | 1.850                   | 4.157                         | 0.0960                          |
| Poids moyen de l'enfant.....                            |                                |                   |              |                | 2.995                   |                               |                                 |
| Proportion moyenne de fer pour 100 grammes de sang..... |                                |                   |              |                |                         |                               | 0.06224                         |

## CHAPITRE VI

---

### Interprétation et Conclusions.

L'examen des nombreux chiffres du tableau précédent montre que la teneur en fer du sang du nouveau-né est voisiné de 0 gr. 06224 pour 100 gr. de sang. Elle est supérieure à celle du sang de l'adulte qui est de 0 gr. 05 d'après Lambling (1) 0,0506 à 0,0537 d'après Pelouze (2). Elle correspond à une proportion de 14 gr. 84 d'hémoglobine pour 100 gr. de sang au lieu de 12 gr. 04, dose du sang de l'adulte, en admettant le chiffre habituellement accepté de 0 gr. 42 de fer pour 100 gr. d'hémoglobine.

Ces résultats semblent montrer également que la proportion de fer est indépendante de toutes

(1) *Thèse de Nancy*, 1882.

(2) *Dictionnaire de Chimie de Wurtz*.

les causes qui pourraient avoir une répercussion sur l'enfant telles que son état de santé, l'âge et l'état de santé de la mère, etc., il est vrai que nous n'avons que peu d'analyses de sang d'enfant chétif ou malade (3 cas).

Mais ces chiffres sont surtout intéressants en ce qu'ils vont permettre de calculer quelle est la proportion de fer hématique par rapport au fer total de l'organisme de l'enfant.

En admettant pour l'enfant comme pour l'adulte, que le poids du sang est d'environ  $1/12$  du poids du corps ; sachant d'autre part que le poids moyen du fœtus à terme est de 2 kil. 995, calculé d'après notre tableau, l'enfant à sa naissance possède environ 250 gr. de sang, ce qui, à raison de 0 gr. 06224 %/o représente pour la totalité de sang :

$$\frac{0,06224 \times 250}{100} = 0 \text{ gr. } 1556 \text{ de fer hématique.}$$

Or, M. Hugounenq (1) a trouvé que le fœtus à terme contient dans la totalité de ses organes une dose de 0 gr. 127 d'oxyde de fer  $\text{Fe}^2\text{O}^3$  soit 0 gr. 0889 de fer pour 1 kilog. de poids vivant.

Rapprochant cette dose du poids moyen de l'enfant 2 kil. 995, on trouve que la moyenne de fer total est de

$$0,0889 \times 2,995 = 0 \text{ gr. } 2662 \text{ de fer total.}$$

(1) *Journal Phys. et Path. générale*, 1899.

Le nouveau-né renferme donc une dose totale de fer de 0 gr. 2662 dont 0 gr. 1556 sont à l'état d'hémoglobine et le reste 0 gr. 1106 se trouve dans les tissus.

Le rapport entre le fer hématique et le fer total est donc

$$\frac{0,1556}{0,2662} = 0,5845 \text{ soit } 58,45 \text{ } \%$$

Donc 58,45 % du fer se trouve à l'état d'hémoglobine; le reste, 41,55 %, est fixé dans les tissus. Or, comme ces tissus sont beaucoup moins riches en fer que le sang, il s'en suit qu'une forte proportion de fer se trouve en réserve quelque part dans l'organisme, probablement dans le foie ou la rate. Ainsi est démontré que les constatations faites par Bunge, sur les petits animaux, sont applicables à l'espèce humaine et que l'enfant apporte, en naissant, une provision de fer destinée à suppléer à l'insuffisance du fer contenu dans le lait de la mère, et à servir à l'édification des tissus, si l'on admet que, de même que pour l'adulte, le poids de la totalité du sang soit environ le 1/12 du poids de l'enfant, ce qui est généralement accepté.

---



## CONCLUSIONS

---

1<sup>o</sup> Les méthodes de destruction des matières organiques habituellement employées en toxicologie ne brûlent qu'incomplètement ces matières. Appliquées au sang, elles laissent du fer non libéré, qui échappe au titrage ; de plus, les liquides obtenus ne se prêtent pas ou très difficilement aux méthodes de dosage du fer.

2<sup>o</sup> Parmi les méthodes de dosage du fer applicables à de faibles quantités de sang, quatre donnent d'assez bons résultats : ce sont celles de Haswell, de Bruel, la méthode au nitroso  $\beta$  naphthol et enfin celle au permanganate de potassium. Le procédé colorimétrique ne nous a donné que de très mauvais résultats.

3<sup>o</sup> La méthode au permanganate de potassium est la plus exacte et la plus sensible ; elle permet d'effectuer un dosage volumétrique même sur 1 gr. de sang.

4<sup>o</sup> Le procédé de dosage du fer que nous conseillons consiste à détruire le sang au rouge faible par un mélange de nitrate de potasse et de carbonates alcalins, en proportions déterminées ; la destruction est totale et rapide. Les liquides obtenus se prêtent bien à un dosage à l'aide de la solution centinormale de permanganate de potassium.

5° Ce procédé, appliqué à l'analyse de vingt-cinq échantillons de sang d'enfants nouveau-nés, montre que la proportion de fer y est en moyenne de 0 gr. 06224 pour 100 gr. de sang, soit environ 0 gr. 1556 de fer hématique chez l'enfant, ce qui représente 58,45 % du fer total. Il reste 0 gr. 1106, soit 41,55 %, de fer dans les tissus, dont la plus grande partie en réserve dans un organe viscéral, probablement le foie ou la rate, si l'on admet les idées de Bunge à ce sujet.

6° Les résultats ci-dessus démontrent que les conceptions de Bunge, à propos des mammifères, sont applicables à l'espèce humaine, et que l'enfant apporte en naissant, une provision de fer destinée à parer à l'insuffisance du fer contenu dans le lait maternel.

Ces deux dernières conclusions sont cependant sous la dépendance de cette hypothèse, fort probable et généralement admise, que le rapport entre le poids du sang et le poids du corps est de 1/12, chez l'enfant comme chez l'adulte.

Vu :

*Le Président de la Thèse,*

P. CAZENEUVE.

Vu :

*Pour le Doyen, l'Assesseur,*

LACASSAGNE.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Lyon, le 17 décembre 1901.

*Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,*

GABRIEL COMPAYRÉ



